

体外模拟胃肠消化过程中云南金花茶抗氧化能力变化

石志娇^{1,2}, 唐军荣¹, 向建英¹, 阚欢^{1,2}, 赵平^{1,2}, 张贵良³, 刘云^{1,2*}

(1. 西南林业大学西南山地森林资源保育与利用教育部重点实验室, 云南昆明 650224)

(2. 云南省高校大健康类森林资源开发利用工程研究中心, 云南昆明 650224)

(3. 云南大围山国家级自然保护区管护局河口管护分局, 云南河口 661399)

摘要: 为探究云南金花茶在消化过程中总黄酮、总多酚释放及功能活性的变化情况, 该研究采用体外模拟胃肠消化模型测定了云南金花茶消化液中总黄酮、总多酚浓度及自由基清除能力、铁离子还原能力和脂质过氧化抑制能力, 并对其进行了相关性分析。结果表明, 模拟胃消化过程中, 云南金花茶总黄酮、总多酚含量均比口腔消化高, 最高分别达 229.99、327.65 $\mu\text{g/mL}$, 经肠消化后, 总黄酮含量在 38.56~78.88 $\mu\text{g/mL}$ 之间, 总多酚含量在 30.04~65.52 $\mu\text{g/mL}$ 之间, 含量较低。在功能活性测定中, 较口腔消化, 胃消化阶段的 DPPH \cdot 、ABTS $^{\cdot-}$ 清除能力和铁离子还原能力显著升高, 脂质过氧化抑制能力随消化的进行呈上下波动; 经肠消化后, DPPH \cdot 、ABTS $^{\cdot-}$ 清除能力和铁离子还原能力急剧下降, 且均比胃消化阶段低, 而脂质过氧化抑制能力则趋于平稳或逐渐上升。通过相关性分析及主成分分析, 各指标之间存在一定的关联性。综上所述, 云南金花茶是较好的活性物质来源, 该研究可为探索云南金花茶在人体消化过程中活性物质的变化及作用机制提供一定的实验基础和新思路。

关键词: 云南金花茶; 模拟胃肠道消化; 清除自由基; 抑制脂质过氧化

文章编号: 1673-9078(2024)04-95-103

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.4.0423

Changes in the Antioxidant Capacity of Yunnan *Camellia fascicularis* during *in Vitro* Simulated Gastrointestinal Digestion

SHI Zhijiao^{1,2}, TANG Junrong¹, XIANG Jianying¹, KAN Huan^{1,2}, ZHAO Ping^{1,2}, ZHANG Guiliang³, LIU Yun^{1,2*}

(1. Key Laboratory of Forest Resources Conservation and Utilization in the Southwest Mountains of China Ministry of Education, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China)(2. Forest Resources Exploitation and Utilization Engineering Research Center for Grand Health of Yunnan Provincial Universities, Kunming 650224, China)(3. Hekou Management Sub-bureau of Yunnan Daweishan National Nature Reserve Management Bureau, Hekou 661399, China)

Abstract: To investigate the changes in the release and functional activity of total flavonoids and total polyphenols of *Camellia fascicularis* during the digestion, the total flavonoid and total polyphenol contents, as well as free radical

引文格式:

石志娇,唐军荣,向建英,等.体外模拟胃肠消化过程中云南金花茶抗氧化能力变化[J].现代食品科技,2024,40(4):95-103.

SHI Zhijiao, TANG Junrong, XIANG Jianying, et al. Changes in the antioxidant capacity of yunnan *Camellia fascicularis* during *in vitro* simulated gastrointestinal digestion [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(4): 95-103.

收稿日期: 2023-04-08

基金项目: 云南省基础研究计划项目(202201AT070050); 云南省教育厅科学研究基金项目(2023Y0789); 云南省“兴滇英才支持计划”青年人才专项(XDYC-QNRC-2022-0222); 云南省农业基础研究联合专项(202101BD070001-045); 国际植物园联盟项目(2063076)

作者简介: 石志娇(1998-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品加工与安全, E-mail: 1492021728@qq.com

通讯作者: 刘云(1982-), 男, 博士, 高级实验师, 研究方向: 食品营养学, E-mail: liuyun0402001@163.com

scavenging ability, iron ion reducing ability, and lipid peroxidation inhibitory ability of the *C. fascicularis* digestive fluid were determined using an *in vitro* simulated gastrointestinal digestion model, and the analysis of their correlation was performed. The results showed that during simulated gastric digestion, the total flavonoid and total polyphenol contents of *C. fascicularis* were higher than those during oral digestion, with the highest values reaching 229.99 and 327.65 $\mu\text{g/mL}$, respectively. After the intestinal digestion, the total flavonoid and total polyphenol contents were both low, ranging from 38.56 to 78.88 $\mu\text{g/mL}$, and 30.04 to 65.52 $\mu\text{g/mL}$, respectively. In the functional activity assay, DPPH and ABTS⁺ scavenging abilities and iron ion reducing ability were significantly higher in the gastric digestion phase than in the oral digestion, while the lipid peroxidation inhibitory ability fluctuated with the progress of digestion. After the intestinal digestion, DPPH and ABTS⁺ scavenging abilities and iron ion reducing ability decreased sharply after the intestinal digestion, which were lower than those during gastric digestion, whilst the lipid peroxidation inhibitory ability tended to be stable or increased gradually. The correlation analysis and principal component analysis revealed that there was certain correlations between the indicators. In summary, *C. fascicularis* is a better source of active substances. This study can provide a certain experimental basis and new ideas for exploring the changes of active substances and their working mechanisms during human digestion of *C. fascicularis*.

Key words: *Camellia fascicularis*; simulated gastrointestinal digestion; scavenging free radical; inhibit lipid peroxidation

云南金花茶 (*Camellia fascicularis*) 又称簇蕊金花茶、云南显脉金花茶, 是云南特有的一个极小种群植物, 含有多种对人体有益的维生素、微量元素、氨基酸以及黄酮、多酚等成分^[1]。据研究报道, 金花茶对于调节人体血脂、血糖、胆固醇等具有明显效果, 可改善因高血压引起的各种不适症状^[2], 具有极高的开发价值。作为金花茶组的一个种, 云南金花茶在育种方面的研究较为深入, 在活性物质方面如黄酮、多酚等的研究包括了含量评价^[3]、提取方法优化和抗氧化活性^[4,5]、抗炎活性^[6,7]以及抗肿瘤活性^[8]等的测定。云南金花茶是云南特有的药食同源性植物, 目前对其在人体中的消化释放和吸收利用情况还未见任何报道, 因此, 为了充分考虑其活性物质在人体消化过程中的变化情况, 更好地了解云南金花茶活性物质与健康之间的联系和所涉及的机制, 在体外模拟人体消化的生理过程就显得尤为必要。

体外模拟消化是基于人体体内消化环境和生理过程而在体外建立相似的条件来模拟人体消化过程的一种模型, 这种模型可以综合模拟人体口腔、胃、小肠和大肠的消化过程, 灵活简单、应用范围广泛并且重现性较好^[9]。目前, 体外模拟胃肠消化模型已广泛用于研究功能性食品中生物活性化合物的变化、生物可及性和生物活性的变化等^[10]。

黄酮、多酚等活性物质对由自由基链反应引起的氧化、过氧化等炎症反应具有很重要的调节和抑制作用^[11,12], 然而, 人体胃肠道的物理和生化特性

可能会影响植物中活性物质的存在形式及其功能活性。因此, 本研究通过胃肠道消化模型来探索云南金花茶叶片在消化过程中总黄酮、总多酚的释放情况, 并测定其消化阶段中的自由基清除能力、铁离子还原能力以及脂质过氧化抑制能力, 以此来评价云南金花茶在不同消化时间段内总黄酮、总多酚含量及活性变化之间的关系, 为扩大云南金花茶应用范围提供思路, 可以为进一步研究云南金花茶多酚消化吸收机制提供一定的理论依据, 这对于推进云南金花茶产品化进程具有重要的意义。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

云南金花茶叶片, 于 2021 年采自云南河口。

没食子酸、芦丁、福林酚、 α -淀粉酶、胃蛋白酶、胰蛋白酶、猪胆盐、大豆卵磷脂, 上海源叶生物科技有限公司; DPPH、ABTS, 合肥博美生物科技有限责任公司; TBA, 国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

YXFT3MP pH 计, 上海梅特勒-托利多精密仪器有限公司; SpectraMax190 酶标仪, 上海美谷分子仪器有限公司; THZ-82A 数显恒温振荡器, 常州朗越仪器制造有限公司; TG16-WS 离心机, 湖南迈克实验仪器有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 云南金花茶粗提液制备

准确称取 0.4 g 云南金花茶叶粉末, 加入 20 mL 甲醇, 40 °C 超声提取 30 min, 8 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 重复提取 2 次, 合并提取液备用。

1.3.2 体外模拟胃肠消化

参照尹瑞旻等^[13]的方法略作修改, 对云南金花茶叶片模拟胃肠消化。

模拟口腔消化: 于 50 mL 离心管中加入 0.4 g 云南金花茶粉末, 后加入 20 mL 口腔电解液 (20 mg NaCl, 30 mg KCl, 12 mg CaCl₂ 溶解于 100 mL 蒸馏水), 2 mL α-淀粉酶 (活力为 100 U/mL) 将 pH 值调至 6.6, 37 °C 120 r/min 下震荡 10 min, 离心取上清液备用。

模拟胃消化: 口腔残留样用 0.1 mol/L HCl 调 pH 值至 2.0, 终止 α-淀粉酶作用, 加入 10 mL 胃电解液 (775 mg NaCl, 275 mg KCl, 37.5 mg CaCl₂, 150 mg NaHCO₂ 溶解于 250 mL 蒸馏水), 2 mL 酶液 (0.5 g 胃蛋白酶溶于 100 mL 的 0.03 mol/L NaCl 溶液), 37 °C 120 r/min 下震荡 2 h, 分别于 0、30、60、90、120 min 时取样 8 mL 进行指标测定。

模拟肠消化: 口腔-胃残留样用 0.1 mol/L NaHCO₃ 调 pH 值至 7.0, 终止胃蛋白酶作用, 加入 10 mL 肠电解液 (540 mg NaCl, 65 mg KCl, 33 mg CaCl₂ 溶解于 100 mL 蒸馏水) 及 2 mL 胰蛋白酶-胆盐混合液, 37 °C 120 r/min 下震荡 4 h, 分别于 0、30、60、120、180、240 min 时取样 8 mL 进行指标测定。

1.3.3 总黄酮、总多酚含量测定

总黄酮含量测定采用亚硝酸钠法^[14], 以芦丁为标准品在 510 nm 处测得的吸光度 (y_1) 对浓度 (x_1) 进行回归, 得到回归方程为 $y_1=0.046\ 46+0.001\ 04x_1$, $R_1^2=0.999$, 以此进行样液中总黄酮含量测定。总多酚含量测定采用福林酚法^[15], 以没食子酸为标准品在 765 nm 处测得的吸光度 (y_2) 对浓度 (x_2) 进行回归, 得到回归方程为 $y_2=0.070\ 79+0.035\ 78x_2$, $R_2^2=0.999$, 以此进行样液中总多酚含量测定。

1.3.4 自由基清除能力测定

1.3.4.1 DPPH·清除率测定

参考 Zheng 等^[16]的方法略作修改。取 100 μL 不同消化液与等体积的 DPPH (40 mg/L, $\varphi=95\%$

乙醇) 溶液混合, 避光 30 min, 于波长 517 nm 处测吸光度。

$$A_{\text{DPPH}} = \left(1 - \frac{A_2 - A_1}{A_0}\right) \times 100\% \quad (1)$$

式中:

A_{DPPH} ——DPPH·清除率, %;

A_0 ——蒸馏水代替消化液的吸光度;

A_1 —— $\varphi=95\%$ 乙醇代替 DPPH 溶液的吸光度;

A_2 ——消化液的吸光度。

1.3.4.2 ABTS⁺清除率测定

参考 Teng 等^[17]的方法稍作修改。7.4 mmol/L ABTS 溶液与 2.6 mmol/L 过硫酸钾溶液以 1:1 (V/V) 混合, 室温黑暗放置 12 小时, 用前稀释, 于波长 734 nm 处调节吸光度至 0.700 ± 0.02 , 作为 ABTS⁺ 工作液。取 800 μL ABTS⁺ 工作溶液分别与 200 μL 的消化液充分混合, 避光反应 6 min 于 734 nm 处测吸光度。

$$A_{\text{ABTS}} = \left(1 - \frac{A_2 - A_1}{A_0}\right) \times 100\% \quad (2)$$

式中:

A_{ABTS} ——ABTS⁺清除率, %;

A_0 ——蒸馏水代替消化液的吸光度;

A_1 ——消化液的吸光度。

1.3.5 铁离子还原能力测定

参照石志娇等^[18]的方法并微调。分别取 100 μL 不同消化液、pH 值为 6.6 的 PBS 缓冲溶液、质量分数为 1% 的铁氰化钾于离心管中混合均匀, 50 °C 的水浴中孵育 20 min, 后加入 100 μL 体积分数为 10% 的三氯乙酸摇匀, 取 100 μL 上清液加入 96 孔酶标板中, 同时加入等体积的蒸馏水和质量分数为 0.1% 的三氯化铁溶液, 反应 10 min 后在 700 nm 处测吸光度。用吸光度值表示消化液对三氯化铁中铁离子的还原能力。

1.3.6 脂质过氧化抑制能力测定

结合闫红秀等^[19]和旷慧等^[20]的方法并作修改调整。

1.3.6.1 蛋黄卵磷脂脂质过氧化抑制率测定

卵黄悬液的配制: 将新鲜的鸡蛋去除蛋清, 加入等体积的 0.1 mol/L 的 PBS (pH 值为 7.4) 配置悬液, 37 °C 磁力搅拌 10 min, 以 1:25 稀释为卵黄悬液备用。

TCA-TBA-HCl (TTH) 混合液的配制: 在蒸馏

水中依序放入 15 g TCA, 0.375 g TBA, 2.1 mL 浓盐酸。

于离心管中依次加入 100 μL 卵黄悬液、100 μL 400 $\mu\text{mol/L}$ 三氯化铁溶液、100 μL 400 $\mu\text{mol/L}$ Vc 溶液和 100 μL 不同消化液混匀, 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 60 min, 再加入 200 μL TTH 混合液, 90~100 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 15 min, 冰水冷却后离心 5 min, 取上清液在 532 nm 处测吸光度。

$$A_{\text{PC}} = \left(1 - \frac{A_2 - A_1}{A_0}\right) \times 100\% \quad (3)$$

式中:

A_{PC} ——蛋黄卵磷脂脂质过氧化抑制率, %;

A_0 ——蒸馏水代替消化液的吸光度;

A_1 ——PBS 代替脂质体的吸光度;

A_2 ——消化液的吸光度。

1.3.6.2 大豆卵磷脂脂质过氧化抑制率测定

大豆卵磷脂溶液的配制: 20 mg 卵磷脂溶解于 10 mL PBS (0.1 mol/L, pH 值为 7.4) 中。

于离心管中依次加入 100 μL 大豆卵磷脂溶液、100 μL 400 $\mu\text{mol/L}$ 三氯化铁溶液、100 μL 400 $\mu\text{mol/L}$ Vc 溶液和 100 μL 不同消化液混匀, 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 60 min, 再加入 200 μL TTH 混合液, 90~100 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 15 min, 冰水冷却后离心 5 min, 取上清液在 532 nm 处测吸光度。

$$A_{\text{LHP}} = \left(1 - \frac{A_2 - A_1}{A_0}\right) \times 100\% \quad (4)$$

式中:

A_{LHP} ——大豆卵磷脂脂质过氧化抑制率, %;

A_0 ——蒸馏水代替消化液的吸光度;

A_1 ——PBS 代替脂质体的吸光度;

A_2 ——消化液的吸光度。

1.4 数据处理

所有实验平行测定 3 次, 以 Mean \pm SD 表示。采用 Microsoft Excel 2010 对数据进行录入和整理, 采用 SPSS 26.0 软件进行单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 表示差异显著。此外, 通过联川生物云平台进行主成分分析, 对上传的数据进行中心化和 z-score 归一化, 并采用 Pearson 相关性测定模拟胃肠道消化前后总黄酮、总多酚与自由基清除能力 (DPPH、ABTS)、铁离子还原能力、脂质过氧化抑制能力 (蛋黄卵磷脂脂质过氧化、大豆卵磷脂脂质过氧化) 之间的相关性。采用 Origin 2022 绘图。

2 结果与分析

2.1 胃肠消化过程中总黄酮、总多酚含量变化

2.1.1 总黄酮含量变化

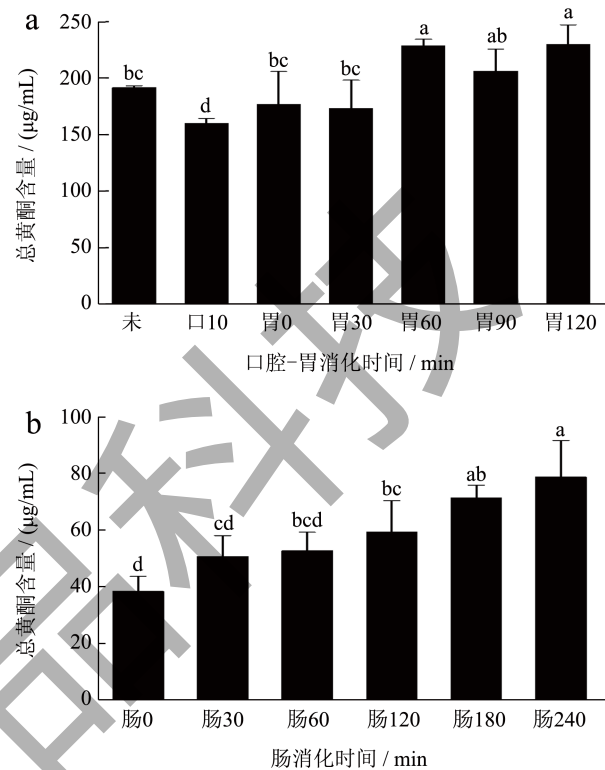


图1 总黄酮含量变化

Fig.1 Changes of total flavonoid content

注:(a) 未消化和口腔-胃消化过程中总黄酮含量变化, (b) 肠消化过程中总黄酮含量变化。图中柱上 a、b、c、d、e 表示组间存在显著差异 ($P < 0.05$), 下同。

根据图 1a, 云南金花茶未消化样液中总黄酮含量为 191.53 $\mu\text{g/mL}$, 口腔消化液中总黄酮含量为 159.85 $\mu\text{g/mL}$ 。在胃肠消化过程中, 总黄酮含量的变化随消化时间延长总体呈上升趋势, 胃消化阶段中总黄酮含量均较于肠消化阶段高。胃消化 30~60 min 总黄酮含量显著升高 ($P < 0.05$), 消化 90 min 时略有降低, 但下降趋势不显著, 随后便回升, 这可能是酸性环境促进了某些与蛋白质结合的黄酮类物质释放, 随着消化时间延长, 释放量大于降解量^[20]。由图 1b 可知, 经胃消化 120 min 后, 在肠消化初期 (0 min), 总黄酮含量降低了 191.43 $\mu\text{g/mL}$, 随着肠消化的继续, 总黄酮含量上升, 消化 240 min 含量达最高 (78.88 $\mu\text{g/mL}$), 是消化 0 min 的 2.04 倍。原因可能是肠消化初期, 消化环境中的酶系和 pH

环境会使胃消化阶段下的黄酮类物质降解,且加入肠消化液后,也会使原本的黄酮浓度受到稀释,随着肠消化的进行,总黄酮含量有少量回升,推测胰蛋白酶和胆酸盐可能会促使黄酮类物质的释放,是主要的贡献者,但pH环境可能会影响黄酮类物质的结构和存在形式。

2.1.2 总多酚含量变化

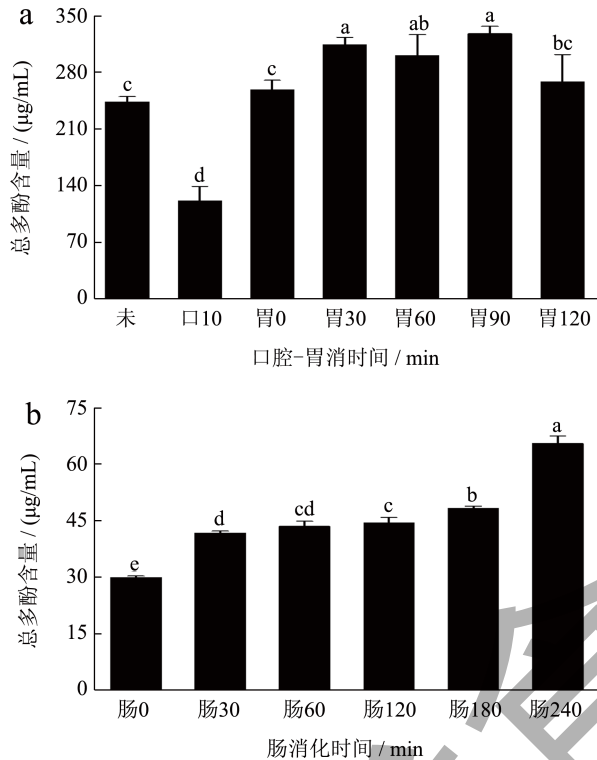


图2 总多酚含量变化

Fig.2 Changes in total polyphenol content

注:(a) 未消化和口腔-胃消化过程中总多酚含量变化;
(b) 肠消化过程中总多酚含量变化。

由图2a可知,云南金花茶未消化样液中总多酚含量为243.51 $\mu\text{g/mL}$,口腔消化液中云南金花茶总多酚含量为121.77 $\mu\text{g/mL}$ 。在模拟胃液消化过程中,总多酚含量的变化随消化时间的延长出现了波动,但整体来看,与消化0 min相比是增加的,可能是在胃蛋白酶的作用下,部分结合态多酚水解释放出多酚,从而使可测多酚增加^[21]。在胃消化90 min,总多酚含量达到最高,为327.65 $\mu\text{g/mL}$ 。由图2b可知,肠消化阶段中总多酚含量变化趋势与总黄酮一致。经比较发现,胃消化120 min后,在肠消化初期(0 min)时,总多酚含量大幅度地降低了238.49 $\mu\text{g/mL}$,损失量为肠消化0 min的7.94倍,这可能是加入肠消化液,稀释了原有的多酚,此外,

pH值上升,酸碱环境改变,多酚降解或聚合,导致可测多酚减少^[22]。随着肠消化的继续,总多酚含量逐渐上升,但均比胃消化部位低,说明多酚在胃环境中更稳定^[23],造成这种差异的原因可能是总多酚在弱碱性的肠消化环境下会发生氧化、聚合、降解等反应,导致其总体含量低^[22]。

2.2 胃肠消化过程中自由基清除能力变化

2.2.1 DPPH·清除能力

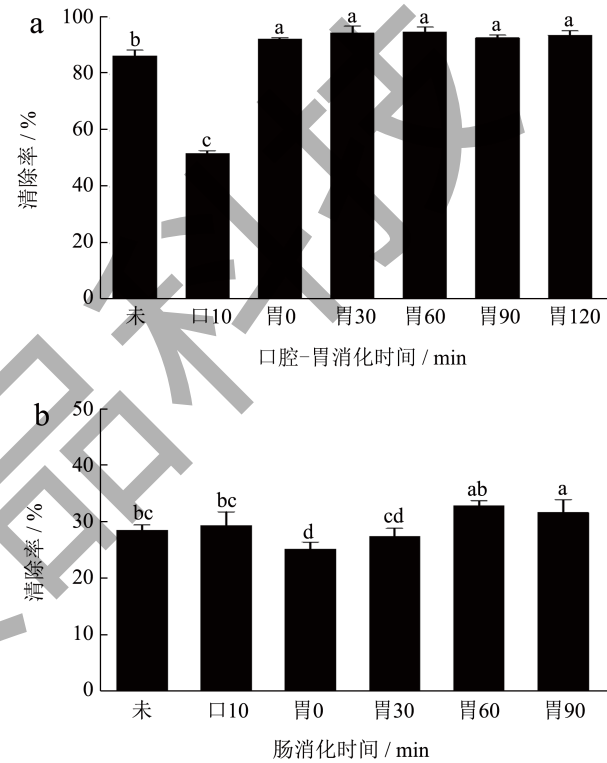


图3 DPPH·清除能力变化

Fig.3 Change of DPPH· scavenging ability

注:(a) 未消化和口腔-胃消化过程中DPPH·清除能力变化;(b) 肠消化过程中DPPH·清除能力变化。

如图3a,云南金花茶未消化样液的DPPH·清除率为86.62%。与口腔消化(51.89%)相比,模拟胃消化后,云南金花茶DPPH·清除能力显著升高($P<0.05$),清除能力提高了32.69%~35.21%,均达到90%以上。根据图3b可知,与胃消化末期(120 min)相比,经肠消化后,消化液的清除能力均降低,降幅在60.92%~68.55%之间。此外,胃消化阶段中消化0 min时对DPPH·清除能力最低(92.58%),在肠消化阶段中消化180 min时对DPPH·清除能力最高(32.97%),两者相差近2.81倍,表明相对于肠消化,胃消化过程中的DPPH·清除能力更高^[24]。

2.2.2 ABTS⁺·清除能力

如图4a所示,云南金花茶未消化样液的ABTS⁺·清除率为94.36%,高于口腔消化液。在胃消化过程中,云南金花茶ABTS⁺·清除能力的变化趋势与DPPH·相似。根据图4b可知,在肠消化60 min时,消化液对ABTS⁺·清除能力显著下降($P<0.05$),随着消化的继续,清除能力逐渐上升,但总体上都低于胃消化阶段。可能是肠消化前期,由于消化环境的改变,使得胃消化过程遗留下的多酚和黄酮类成分迅速降解,结构发生变化,导致清除率下降,随着消化的继续,活性物质释放量大于降解量,因此清除能力逐渐回升。

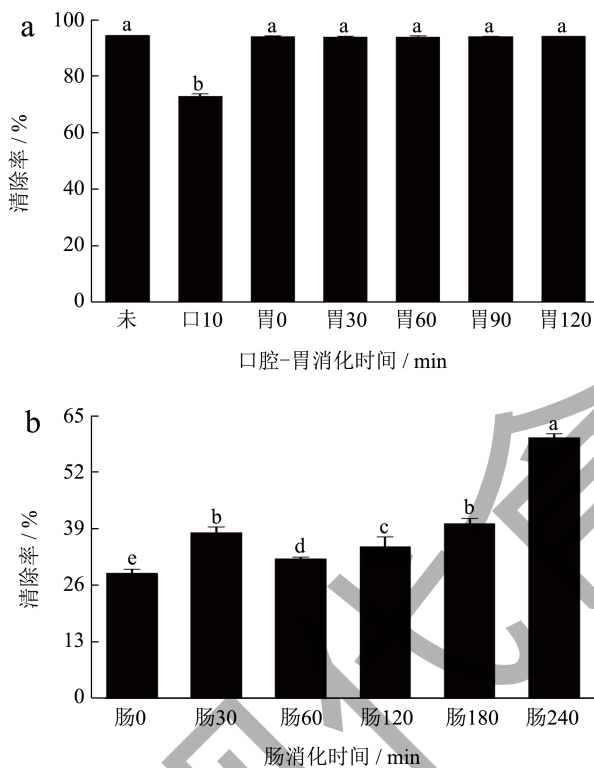


图4 ABTS⁺·清除能力变化

Fig.4 Change of ABTS⁺· scavenging ability

注:(a)未消化和口腔-胃消化过程中ABTS⁺·清除能力变化;(b)肠消化过程中ABTS⁺·清除能力变化。

综上,经模拟消化后,云南金花茶中的黄酮和多酚类物质逐渐被释放出来,表现出不同的活性。较口腔消化组,云南金花茶经胃消化后,不同消化阶段的DPPH·、ABTS⁺·清除能力显著升高。经肠消化后,自由基清除能力急剧下降,且均比胃消化阶段低,这与总黄酮、总多酚含量变化趋势大体一致,表明胃肠消化过程中自由基清除能力变化可

能与黄酮、多酚类物质在胃肠环境中的变化情况有关,这些物质在弱碱性环境不稳定,且易于蛋白质等大分子络合,降低其在消化液的溶解性,进而降低抗氧化活性^[26]。自由基的清除效果可以反应抗氧化作用,在本研究中,胃消化环境中的抗氧化能力较高,经肠消化后抗氧化能力下降,这与上述说法一致。

2.3 铁离子还原能力

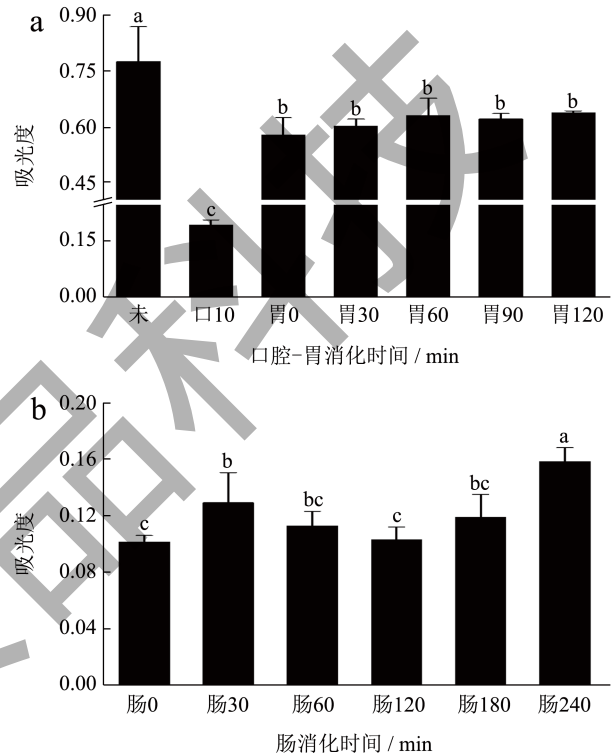


图5 铁离子还原能力变化

Fig.5 Change of iron reduction ability

注:(a)未消化和口腔-胃消化过程中铁离子还原能力变化;(b)肠消化过程中铁离子还原能力变化。

如图5所示,云南金花茶未消化样液吸光度为0.77,大于口腔消化液。经模拟消化后,胃消化过程对铁离子还原能力均高于肠消化过程,胃消化阶段最小吸光度为0.57(消化0 min),肠消化阶段最大吸光度为0.16(消化240 min)。由图5a可知,在胃消化中,随着消化时间增加,云南金花茶对铁离子还原能力上升,上升差异不显著($P>0.05$),如图5b所示,经肠消化过程,还原能力先上升再下降后上升,呈现这一趋势可能与肠消化阶段活性物质浓度变化有关,也可能与pH值的变动有关^[25]。

2.4 胃肠消化过程中脂质过氧化抑制能力变化

2.4.1 蛋黄卵磷脂脂质过氧化抑制能力

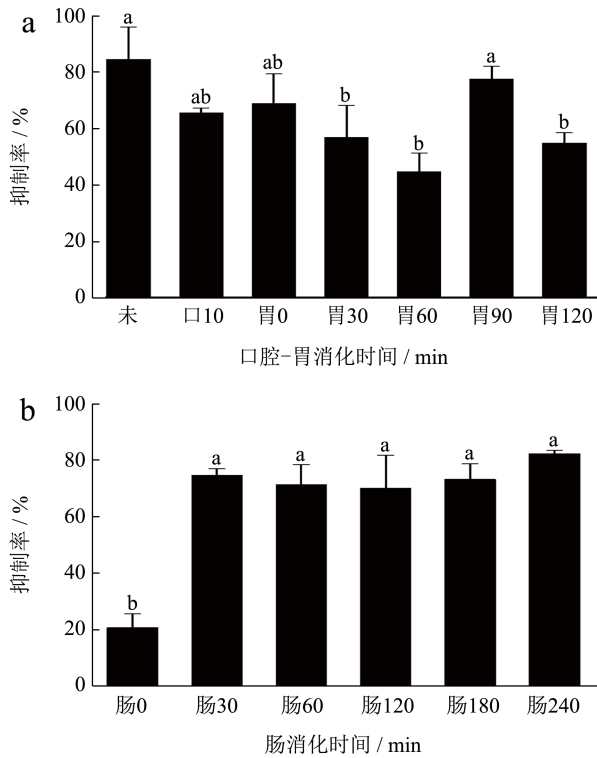


图6 蛋黄卵磷脂脂质过氧化抑制能力变化

Fig.6 Changes in the inhibitory ability of egg yolk lecithin lipid peroxidation

注：(a) 未消化和口腔-胃消化过程中蛋黄卵磷脂脂质过氧化抑制能力变化；(b) 肠消化过程中蛋黄卵磷脂脂质过氧化抑制能力变化。

蛋黄卵磷脂是一种磷脂混合物，其中的主成分是磷脂酰胆碱（Phosphatidylcholine, PC）。由图6可知，云南金花茶未消化样液和胃肠消化液对蛋黄卵磷脂脂质过氧化均具有一定的抑制能力。在图6a中的胃消化阶段，脂质过氧化抑制率具有差异性，消化90 min，蛋黄卵磷脂脂质过氧化抑制能力最高，为77.17%，在90 min之前，随消化时间增加，抑制能力逐渐降低，可能是在这个阶段，云南金花茶释放出的对蛋黄卵磷脂脂质过氧化具有抑制能力的活性物质的降解量大于释放量，在90 min左右，则是释放量大于降解量，因此抑制情况便表现出先下降后上升再下降的趋势。在图6b中的肠消化过程中，脂质过氧化抑制率差异不显著 ($P>0.05$)。与胃消化末期（120 min）相比，肠消化0 min，抑制率降低，随着消化进行，抑制率显著提高 ($P<0.05$)，消化240 min 达最高（82.49%）。这可能是在胃肠消化过

度阶段（0 min），由于消化环境的改变，具有抑制能力的黄酮、多酚类成分迅速降解，抑制率最低，随着肠消化进行，释放出的具有脂质过氧化抑制能力的这类物质逐渐增多，降解量与释放量趋于平衡，因此抑制率显著提升 ($P<0.05$) 后便趋于稳定。

2.4.2 大豆卵磷脂脂质过氧化抑制能力

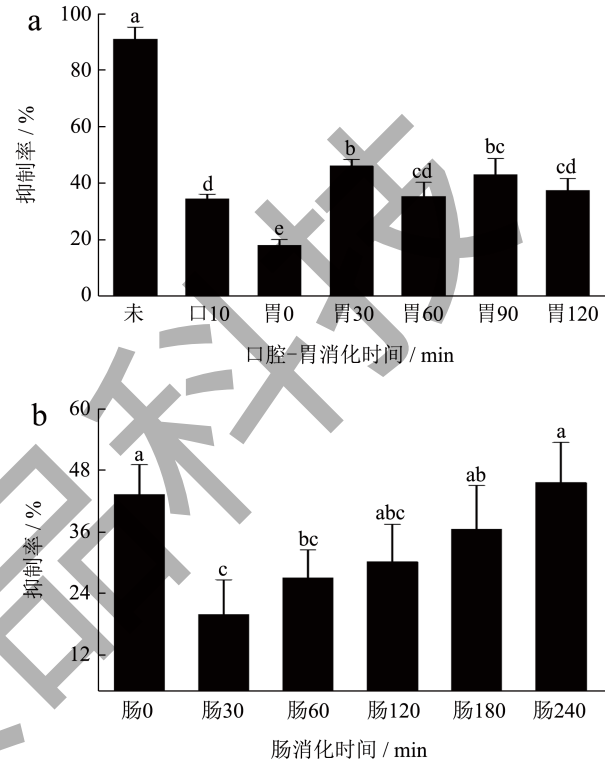


图7 大豆卵磷脂脂质过氧化抑制能力变化

Fig.7 Changes in the inhibitory ability of soybean lecithin lipid peroxidation

注：(a) 未消化和口腔-胃消化过程中大豆卵磷脂脂质过氧化抑制能力变化；(b) 肠消化过程中大豆卵磷脂脂质过氧化抑制能力变化。

由图7可知，云南金花茶胃肠消化液对大豆卵磷脂（Lecithin High Potency, LHP）脂质过氧化均具有抑制能力。在图7a中未消化样液对大豆卵磷脂脂质过氧化抑制率为90.81%，高于口腔消化，在胃消化阶段，消化30 min时测定样液的脂质过氧化抑制率最大为46.15%，随着消化的进行，脂质过氧化抑制率具有一定波动性，这可能是由于在胃消化环境中，对大豆卵磷脂脂质过氧化具有抑制作用的黄酮、多酚类成分存在形式不稳定，使得脂质过氧化抑制率呈现上下波动的现象。如图7b显示，肠消化0 min，抑制率为43.30%，消化30 min，抑制率显著降低 ($P<0.05$)，随着消化的继续，抑制率逐渐上升，

消化为 240 min 时, 抑制率达最高 (45.62%)。这可能是由于在弱碱性的肠消化环境中, 消化 0~30 min, 对大豆卵磷脂脂质过氧化具有抑制作用的黄酮、多酚类成分的降解量大于释放量, 随着消化的进行, 释放量大于降解量, 这类物质累积量逐渐增加, 对大豆卵磷脂脂质过氧化的抑制能力显现出逐渐上升的趋势。

综上, 本研究在卵磷脂脂质体存在下, 通过二价铁离子促进其脂质过氧化, 探究了云南金花茶消化液对脂质过氧化的抑制作用。在胃消化过程中, 随着消化的进行, 脂质过氧化抑制能力均表现出上下波动的情况, 可能是模拟胃消化过程释放出对脂质过氧化起作用的黄酮、多酚类成分存在形式不稳定, 模拟肠消化过程, 脂质过氧化抑制率趋于平稳或逐渐上升, 可能是随着肠消化的进行, 对脂质过氧化起作用的这类物质的释放量大于或等于降解量。总之, 云南金花茶胃肠消化过程中释放出的黄酮、多酚类成分均有抑制脂质过氧化能力, 但抑制率的高低与总黄酮、总多酚含量并不趋于一致, 后续应该进一步研究单体酚对脂质过氧化的作用。

2.5 相关性分析及主成分分析

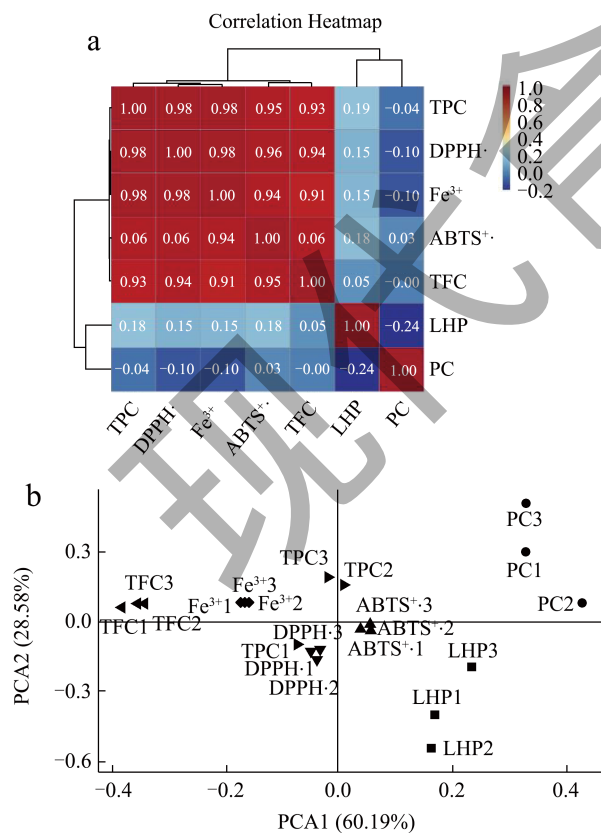


图 8 相关性和主成分分析

Fig.8 Correlation and principal component analysis

注: (a) 相关性热图; (b) PCA 主成分图。

将体外模拟胃肠消化过程中测定的总黄酮含量 (TFC)、总多酚含量 (TPC)、DPPH· 清除能力 (DPPH·)、ABTS⁺· 清除能力 (ABTS⁺·)、铁离子还原能力 (Fe³⁺)、蛋黄卵磷脂脂质过氧化抑制能力 (PC) 和大豆卵磷脂脂质过氧化抑制能力 (LHP) 等 7 项指标之间进行了相关性分析及主成分分析 (PCA), 由图 8a 相关性分析得, 总黄酮含量、总多酚含量与自由基清除率和铁离子还原能力之间呈显著正相关, 且相关系数均在 0.9 以上, 表明相关性极强; 总黄酮含量、总多酚含量与脂质过氧化各指标之间的相关系数较低, 但也具有一定的相关性。主成分分析中各指标之间的距离也可反应其联系的紧密程度^[27], 根据图 8b 可得, 总黄酮、总多酚含量、DPPH·、ABTS⁺· 清除能力和铁离子还原能力之间的距离较近, 说明它们之间的联系较为紧密, 相关性高, 这也能反应相关性热图的分析结果。

3 结论

本研究通过模拟消化技术对云南金花茶进行体外模拟胃肠消化, 通过动态研究了云南金花茶在口腔、胃、肠消化环境中总黄酮、总多酚含量及抗氧化变化规律。在模拟消化过程中, 云南金花茶消化液中总黄酮、总多酚含量及自由基清除率、铁离子还原能力和脂质过氧化抑制能力存在显著性差异。经模拟胃消化后, 总黄酮、总多酚含量较高, 肠消化 0 min, 含量下降, DPPH·、ABTS⁺· 清除率和铁离子还原能力的变化趋势与总黄酮、总多酚含量变化趋势相似。经相关性分析, DPPH·、ABTS⁺· 清除率和铁离子还原能力与总黄酮、总多酚含量之间呈显著正相关, 且相关性较高。在脂质过氧化抑制能力测定中, 各消化液均对脂质过氧化具有抑制效果, 抑制能力变化趋势与总黄酮、总多酚含量不一致, 经相关性分析, 脂质过氧化各指标与总黄酮含量、总多酚含量之间的相关性较低。根据研究结果可推测, 胃消化过程对云南金花茶清除自由基、还原铁离子和抑制脂质过氧化活性物质的释放均有促进作用, 而肠消化过程主要促进了抑制脂质过氧化活性物质的释放, 可见体外模拟消化过程因消化环境的改变会影响黄酮、多酚类物质的存在形式并使其表现出不同的活性。为探究云南金花茶在消化过程中起抗氧化作用的主要活性物质及其构效关系, 后续还需进一步通过细胞及动物模型研究其消化转运机制和作用机理。

参考文献

- [1] 刘云,付羚,张颖君,等.金花茶组植物的化学成分及保健功效研究进展[J].食品工业科技,2019,40(3):321-326.
- [2] 刘云,赵平,卞家亨,等.簇蕊金花茶叶片营养成分分析与评价[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2021,49(5):146-154.
- [3] 汪梦婷,张贵良,刘云,等.云南金花茶矿质元素及功能成分分析[J].黑龙江农业科学,2018,4:118-121.
- [4] LIU YUN, KAN HUAN, FAN FANGYU, et al. Microwave-assisted extraction and antioxidant activities of polyphenols from *Camellia fascicularis* leaves [J]. Current Topics in Nutraceutical Research, 2018, 17(2): 164-171.
- [5] LIU YUN, LUO XULU, LAN ZENGQUAN, et al. Ultrasonic-assisted extraction and antioxidant capacities of flavonoids from *Camellia fascicularis* leaves [J]. CyTA-Journal of Food, 2017, 16(1): 105-112.
- [6] GAO MIAOZI, PENG XIAOWEI, TANG JUNRONG, et al. Anti-inflammatory effects of *Camellia fascicularis* polyphenols via attenuation of NF- κ B and MAPK pathways in LPS-induced THP-1 macrophages [J]. Journal of Inflammation Research, 2022, 15: 851-864.
- [7] 高妙姿,唐军荣,邓佳,等.基于斑马鱼模型及网络药理学研究云南金花茶多酚的抗炎作用[J].食品科学,2023,44(11):134-142.
- [8] PENG XIAOWEI, HE XUHUA, TANG JUNRONG, et al. Evaluation of the *in vitro* antioxidant and antitumor activity of extracts from *Camellia fascicularis* leaves [J]. Frontiers in Chemistry, 2022, 10: 1035949.
- [9] 矫春娜,张健,刘芳,等.体外模拟消化在水产品营养活性物质研究中的应用进展[J].食品工业科技,2023,44(8):421-428.
- [10] RIBEIRO T B, OLIVEIRA A, CAMPOS D, et al. Simulated digestion of an olive pomace water-soluble ingredient: relationship between the bioaccessibility of compounds and their potential health benefits [J]. Food & Function, 2020, 11(3): 2238-2254.
- [11] LIU GUOYAN, ZHU WENQI, ZHANG JIE, et al. Antioxidant capacity of phenolic compounds separated from tea seed oil *in vitro* and *in vivo* [J]. Food Chemistry, 2022, 371: 131122.
- [12] ZHAO MANTONG, LIU ZHONGYUAN, LI AO, et al. Gallic acid and its alkyl esters emerge as effective anti oxidants against lipid oxidation during hot air drying process of *Ostrea talienwhanensis* [J]. LWT-Food Science and Technology, 2021, 139: 110551.
- [13] 尹瑞昤,李星,胡锦涛,等.小米提取物及其消化液的抗氧化和降糖作用[J].中国食品学报,2021,21(11):14-21.
- [14] 谭超杰,白丽丹,任晶,等.千斤拔总黄酮提取工艺的优化及其萃取相体外抗氧化活性研究[J].中国药理学杂志,2022,57(20):1710-1716.
- [15] WANG WEI, GAO YUTING, WEI JIWEN, et al. Optimization of ultrasonic cellulase-assisted extraction and antioxidant activity of natural polyphenols from passion fruit [J]. Molecules, 2021, 26(9): 2494.
- [16] ZHNG MEIYU, LU SHENGMIN, XING JIANRONG. Enhanced antioxidant, anti-inflammatory and α -glucosidase inhibitory activities of citrus hesperidin by acid-catalyzed hydrolysis [J]. Food Chemistry, 2021, 336: 127539.
- [17] TENG CONG, QIN PEIYOU, SHI ZHENXING, et al. Structural characterization and antioxidant activity of alkali-extracted polysaccharides from quinoa [J]. Food Hydrocolloids, 2021, 113: 106392.
- [18] 石志娇,韦桂芳,何旭华,等.体外模拟消化对黑果腺肋花楸叶片抗氧化及抑制糖消化酶活性影响[J].食品与发酵工业,2023,49(14):147-153.
- [19] 闫红秀,马晓冉,陆培演,等.肉桂精油及其主要成分的羟自由基清除能力、抗脂质过氧化活性及抑菌效果研究[J].黑龙江畜牧兽医,2022,6:99-104.
- [20] 旷慧,冯建文,范倩,等.红树莓多酚的组分分析及体外抗脂质过氧化活性[J].食品科学,2018,39(3):83-89.
- [21] 范利君,宋安康,王志鹏,等.葡萄籽多酚提取物在体外模拟消化过程中抗氧化成分及抗氧化活性的变化[J].食品科技,2022,47(6):235-242.
- [22] 李玉壬,吴神群,杨慧,等.主成分分析法优化绿茶复合代餐粉配方[J].食品研究与开发,2022,43(15):131-137.
- [23] TENORE G C, CAMPIGLIA P, GIANNETTI D, et al. Simulated gastrointestinal digestion, intestinal permeation and plasma protein interaction of white, green, and black tea polyphenols [J]. Food Chemistry, 2015, 169: 320-326.
- [24] 王静,韩莹,罗茜,等.体外模拟胃肠消化过程中猕猴桃抗氧化成分及活性的变化[J].食品与生物技术学报,2020,39(11):49-55.
- [25] MADUWANTHI S D T, MARAPANA R. Total phenolics, flavonoids and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of banana (*Musa acuminata*, AAB) as affected by induced ripening agents [J]. Food Chemistry, 2021, 339: 127909.
- [26] 杨瑞丽,郭卓钊,施奕乔,等.青梅酚类物质在体外模拟消化过程中生物接受率和抗氧化活性的变化[J].食品与发酵工业,2023,49(3):157-163.
- [27] 李实,李云嵌,黄鑫,等.多酚对过氧自由基氧化花生球蛋白的干预效应[J].中国油脂,2023,48(8):104-109.