

发芽对莜麦多酚及抗氧化活性生物可及性的影响

吕俊丽, 侯丽丽, 杨昊鹏, 张乐道

(内蒙古科技大学生命科学与技术学院 内蒙古包头 014010)

摘要 为了提高莜麦中多酚及抗氧化活性的生物可及性,采用体外模拟消化模型和结肠发酵模型,对比发芽和未发芽莜麦在不同消化阶段以及结肠发酵阶段总酚含量及抗氧化活性的变化。结果显示:体外模拟消化阶段,发芽莜麦中多酚生物可及性、DPPH 自由基清除生物可及性、羟自由基清除生物可及性在小肠消化时最高,比未发芽莜麦分别高 8.99%,47.75%,9.57%,还原力生物可及性在胃消化时最高,此时,发芽莜麦比未发芽莜麦高 39.82%。结肠发酵阶段,不同处理莜麦消化残渣中多酚含量及抗氧化活性在发酵 24~30 h 时最高。在结肠发酵 30 h 时,未发芽莜麦消化残渣多酚生物可及性比发芽莜麦消化残渣的高 8.83%,DPPH 自由基清除力生物可及性比发芽莜麦消化残渣的高 8.16%。羟自由基清除生物可及性比发芽莜麦消化残渣的高 16.68%。但与胃肠消化阶段的生物可及性几乎相当。结论:发芽不仅能显著提高莜麦多酚及抗氧化活性在胃肠消化道中的生物可及性,也能使多酚等抗氧化组分在结肠发酵中保持较高的生物可及性,这为谷物多酚在人体消化道内的生物利用度的提高提供新的研究思路。

关键词 发芽; 莜麦; 多酚; 抗氧化活性; 生物可及性

文章编号 1009-7848(2024)06-0033-11 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2024.06.004

多酚是指芳香烃中苯环上的氢原子被羟基取代所生成的化合物,主要包括酚酸、黄酮、花青素和单宁等,是一类广泛存在于蔬菜、水果和谷物中的次生代谢产物^[1],具有抗氧化^[2]、抗癌^[3]、降血压^[4]等功效。近年来,随着饮食结构变化和食物过度加工,心血管疾病、糖尿病等慢性疾病高发。研究表明,多酚可通过弱化或消除氧化应激起到预防这些慢性病的作用。值得注意的是:多酚生理功效的发挥依赖于其在体内的生物利用度。

多酚的生物利用度首先取决于其生物可及性,即从食物基质/传递系统中释放出可供吸收的多酚化合物的量,反映物质能够被吸收的可能性^[5]。《中国居民膳食指南(2022)》指出,坚持谷类为主的膳食模式,每人每天需摄入 200~300 g 谷类食物。谷物作为膳食指南中的基础食物,多酚含量丰富且食用范围广。莜麦中含有大量的酚酸和

蒽酰胺^[6],可作为开发多酚类物质的天然原料。然而,莜麦中多酚主要以结合态多酚存在,如阿魏酸与植物细胞壁纤维以酯键结合形成不易降解的网状结构,这种强烈的相互作用使其在胃肠道内无法被人体消化酶水解,导致其生物利用度较低^[7]。据报道,仅有 5%~10%的谷物多酚能够在小肠中被吸收^[8]。Adam 等^[9]的研究也证实了这一点,同时指出可通过破坏麦麸结构提高阿魏酸的释放率,进而提高其生物利用度。如何提高谷物中多酚的生物可及性,是实现提高其生物利用度的重要前提^[10]。

加工是莜麦食用前必不可少的环节,从加工的角度研究其对莜麦多酚的生物可及性,符合谷物摄入的实际情况。发芽作为一种非热处理加工方式,具有提高营养价值,降低抗营养因子等优点,已广泛应用于粮谷类食品开发。目前,关于发芽莜麦多酚的研究多基于酸、碱等化学试剂处理后多酚的提取、结构及体外抗氧化活性等方面^[11-12]。这种基于有机溶剂萃取量化得到的多酚数量和性质与谷物被摄入后在生理条件下通过消化道吸收的数量不同^[13],表现出的活性也有所差异,因而测定结果不能真实反映谷物多酚在人体内的利用情况。体外消化模型和结肠发酵模型能够客观评估营养物质在体内各个阶段的生物可及性^[14],已广

收稿日期: 2023-06-21

基金项目: 国家自然科学基金项目(32360574);内蒙古自治区自然科学基金项目(2023MS03037);内蒙古自治区高等学校科学技术研究项目(NJZZ23057);内蒙古自治区直属高校基本科研业务费项目(2023QNJS152)

第一作者: 吕俊丽,女,博士,副教授

E-mail: lv_maomao@126.com

泛应用于评价食物或药物在体内的吸收、利用情况。本研究以内蒙古莜麦为原料,采用体外模拟消化模型和结肠发酵模型探究发芽对莜麦多酚与抗氧化活性生物可及性的影响,旨在为以莜麦为代表的谷物营养品质的提升提供理论依据,对提升居民健康水平,开发谷物类产品具有重要意义。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

莜麦(坝莜8号)购自呼和浩特市蒙田种苗有限公司。没有胃肠道疾病且6个月内没有使用过抗生素的猪的粪便,采自内蒙古巴彦淖尔市家庭养殖农场。

没食子酸、DPPH(均为分析纯),阿拉丁试剂(上海)有限公司;福林酚、猪胃蛋白酶、猪 α -淀粉酶、胆汁盐、胰酶,北京索莱宝科技有限公司;30% H_2O_2 ,天津市天力化学试剂有限公司;无水乙醇、碳酸钠、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、氯化钠、铁氰化钾、三氯乙酸、三氯化铁、硫酸亚铁、乙酸乙酯、氢氧化钠均为分析纯。

1.2 仪器与设备

pH计,奥豪斯仪器有限公司;UV-2600紫外-可见分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司;DZF-6050真空干燥箱,上海一恒科学仪器有限公司;SHA-B恒温摇床,武汉中科科仪技术发展有限公司;PSX智能型恒温恒湿培养箱,上海博讯实业有限公司;NDK200-1氮气吹扫仪,上海百点仪器设备有限公司;TDL-5AB冷冻离心机,湖南凯达科学仪器有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 发芽莜麦的制备 根据项目组前期对莜麦发芽工艺优化的条件为:浸泡温度 $20\text{ }^\circ\text{C}$,浸泡厚度 15 mm ,浸泡 20 h 后,发芽温度 $23\text{ }^\circ\text{C}$,发芽时间为 5 d 时多酚含量最高。本试验取适量莜麦种子除杂后,浸泡 20 h 后,置于 $23\text{ }^\circ\text{C}$ 、湿度 95% 的恒温培养箱中培养,每 12 h 换水 1 次,发芽 5 d 后真空干燥,粉碎过 40 目筛,于 $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱密封保存、备用。

1.3.2 体外模拟消化^[18]

1.3.2.1 模拟消化液的配置 模拟口腔液: 1.3 g α -淀粉酶溶于 100 mL 1 mmol/L $CaCl_2$,pH值为

7.0 ;模拟胃液: 4 g 胃蛋白酶溶于 100 mL 0.01% 的HCl溶液;模拟肠液: 0.4 g 的胰酶与 2.5 g 胆汁盐溶于 100 mL 0.1 mol/L pH 7.0 碳酸钠缓冲液。

1.3.2.2 模拟口腔消化 称取 1 g 样品,依次加入 20 mL 蒸馏水、 1 mL 模拟口腔液后, $37\text{ }^\circ\text{C}$ 恒温摇床 100 r/min 消化 10 min , 8 000 r/min 离心,取上清液得到模拟口腔样液,充氮、 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 密封保存,用于多酚含量及抗氧化性测定。

1.3.2.3 模拟胃消化 将模拟口腔消化后的残渣进行胃消化。用 0.1 mol/L HCl调节pH值至 2.0 ,加入 4 mL 模拟胃液,充氮除氧,置于 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 恒温摇床 100 r/min 消化 2 h 后, 8 000 r/min 离心,取上清液得到模拟胃消化样液,充氮、 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 密封保存,测多酚含量及抗氧化性。

1.3.2.4 模拟小肠消化 胃消化阶段结束后,将剩余残渣进行肠消化。将胃消化后残渣迅速置于冰水中冷却,用 0.1 mol/L NaOH调pH值至 7.2 ,充氮除氧,置于 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 恒温摇床 80 r/min 消化 2 h , 8 000 r/min 离心后取上清液,得到模拟小肠消化样液,测多酚含量及抗氧化性。

1.3.3 体外结肠发酵 参考陈壁等^[8]的结肠发酵的方法稍作修改,厌氧培养基的制备参考邹青飞等^[19]的方法。结肠发酵菌群来源:采集没有胃肠道疾病且6个月内没有使用过抗生素的猪的新鲜粪便,按照 32% (体积分数)的比例与磷酸盐缓冲液(0.1 mol/L ,pH 7.4)混合后过滤至锥形瓶中,置于冰上备用。

将体外模拟肠消化后的残渣加入到 90 mL 已灭菌的结肠发酵培养基中,于 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 水合 16 h 后加入 10 mL 粪便接种物,充氮除氧, $37\text{ }^\circ\text{C}$ 厌氧培养 72 h 。分别于发酵 $0,5,10,24,30,24,48$ 和 72 h 取样,每次取样 5 mL , 11 000 r/min 冷冻离心 10 min ,取上清液稀释 2 倍为结肠发酵样品,用于多酚含量和抗氧化活性测定。

1.3.4 多酚提取、分离及纯化 按照料液比 $1:20$ 加入 70% 丙酮,避光提取 2 h 后 4 000 r/min 离心 15 min ,取上清液得到粗多酚提取液。参照卢宇^[20]的方法将粗提液用AB-8大孔树脂进行分离纯化,洗脱液经真空冷冻干燥后备用。

1.3.5 总多酚含量的测定 提取液或不同阶段消化液中总多酚含量的测定采用Folin-Ciocalteu

比色法。以没食子酸标准溶液浓度为横坐标,760 nm 波长下测定的吸光度为纵坐标绘制标准曲线,得标准曲线回归方程为: $y = 0.0667x + 0.0356$, $R^2 = 0.9967$ 。

1.3.6 抗氧化活性测定

1.3.6.1 DPPH 自由基清除率测定 移取提取液或消化液 2.0 mL 于具塞试管中,加入 0.2 mmol/L 的 DPPH 溶液 2.0 mL,混匀后避光反应 30 min,在 517 nm 处测其吸光度,记为 A_1 ;用 2.0 mL 蒸馏水代替待测液,测定吸光度,记为 A_0 。DPPH 清除率计算公式:

$$\text{DPPH 自由基清除率}(\%) = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100 \quad (1)$$

式中: A_1 和 A_0 分别代表待测样的吸光度和空白样的吸光度。

1.3.6.2 羟自由基清除率测定 将待测液中依次加入 1 mL 10 mmol/L 的 FeSO_4 、1 mL 10 mmol/L 的水杨酸、1 mL 8.8 mmol/L 的 H_2O_2 ,37 °C 下反应 30 min,在 510 nm 波长处测吸光度记为 A_1 ,以 1 mL 蒸馏水代替 H_2O_2 ,测定的吸光度记为 A_2 ,以 1 mL 蒸馏水代替待测样测得的吸光度记为 A_0 。羟自由基清除率计算公式为:

$$\text{羟自由基清除率}(\%) = \left[1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right] \times 100 \quad (2)$$

1.3.6.3 还原力的测定 移取 2.5 mL 提取液或消化液,加入 2.5 mL 1% 的铁氰化钾,加入 10% 的 2.5 mL 三氯乙酸,50 °C 水浴 20 min 后,3 000 r/min 离心 10 min 去除反应体系中多余的三氯乙酸,取离心后的上清液 5 mL,依次加入 5 mL 蒸馏水和 1 mL 0.1% 的三氯化铁后,在 700 nm 波长处测定吸光度 A_1 。用蒸馏水代替铁氰化钾,其余步骤同上,测定的吸光值记为 A_0 。还原力的计算公式为:

$$\text{还原力}(\%) = (A_1 - A_0) \times 100 \quad (3)$$

1.3.7 生物可及性 参照 Juániz 等^[5]的方法。体外模拟胃肠道消化和结肠发酵后多酚及其抗氧化活性的生物可及性按照公式 4 进行计算。

$$\text{生物可及性}(\%) = \frac{\text{PCA}}{\text{PCB}} \times 100 \quad (4)$$

式中:PCA 为体外消化不同阶段或结肠发酵不同时间后样品中的酚类化合物含量或抗氧化活性;PCB 为体外消化之前样品中的酚类化合物含

量或抗氧化活性。

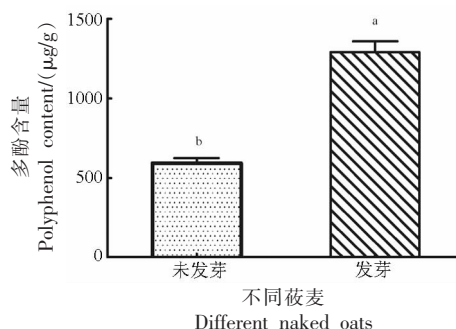
1.3.8 阿魏酸含量的测定 阿魏酸含量的测定采用高效液相色谱法,具体方法参照 Lu 等^[21]的方法。

1.3.9 数据处理方法 采用 SPSS 18.0 软件分析试验数据,Graphpad 作图,结果用平均值±标准差表示($n=3$)。

2 结果与分析

2.1 消化前不同处理苜蓿多酚含量及抗氧化活性比较

2.1.1 消化前不同处理苜蓿多酚含量的比较 消化前不同处理苜蓿多酚含量的比较见图 1。由图 1 可知,苜蓿总酚含量由未发芽时的 592.173 $\mu\text{g/g}$ 增加到发芽后 1 290.317 $\mu\text{g/g}$,增加了约 1.2 倍。苜蓿发芽后多酚含量增加可能的原因是,发芽处理会导致多酚与细胞壁结合的化学键断裂,使得结合酚如对香豆酸、阿魏酸等从细胞壁中游离出来^[22]。



注:不同字母表示在 0.05 水平上差异显著,下同。

图 1 消化前不同处理的苜蓿多酚含量的比较

Fig.1 Comparison of contents of naked oats polyphenol under different treatments before digestion

2.1.2 消化前不同处理苜蓿抗氧化能力的比较

消化前不同处理苜蓿抗氧化能力的比较结果如图 2 所示。由图 2 可知,发芽苜蓿多酚提取液的 DPPH 自由基的清除率比未发芽苜蓿增加了 1.16 倍(图 2a),羟自由基清除率提高了 1.18 倍(图 2b),总还原能力从 63.80%(未发芽)增加到 73.40%(发芽)(图 2c)。以上数据说明,苜蓿发芽后体外抗氧化能力增强,这与图 1 苜蓿发芽后多酚含量的变化趋势相一致。据报道,自由基清除能力与多

酚含量有一定的相关性,多酚含量越高,其自由基清除能力越强^[23]。赵霞^[22]研究发现,发芽后燕麦

抗氧化性有所增加,以上报道与本研究结果相吻合。

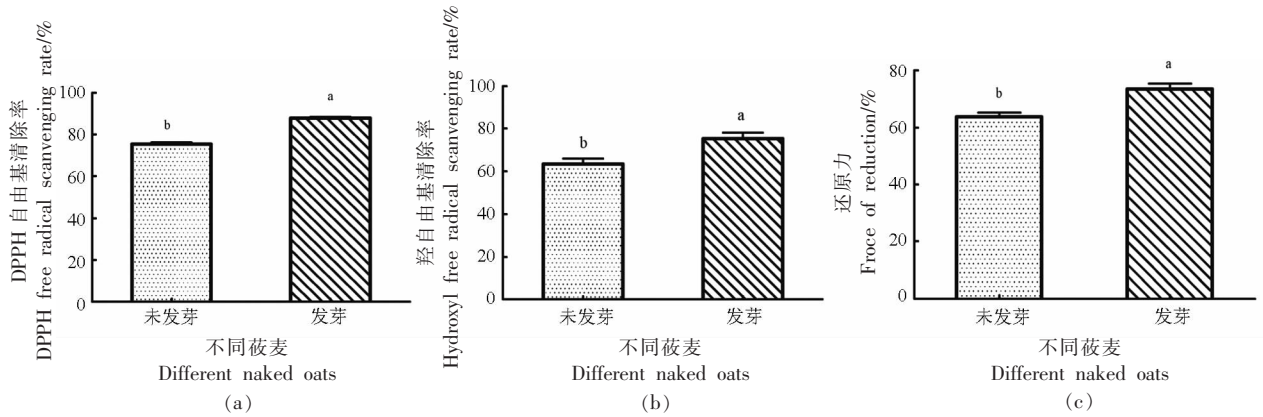


图2 消化前不同处理莜麦抗氧化能力的比较

Fig.2 Comparison of antioxidant capacity of naked oats under different treatments before digestion

2.2 体外模拟消化

2.2.1 体外模拟消化过程中发芽对莜麦多酚含量及抗氧化活性的影响

将发芽与未发芽莜麦分别进行体外模拟消化,测定不同消化阶段的多酚含量及抗氧化活性,结果如图3所示。

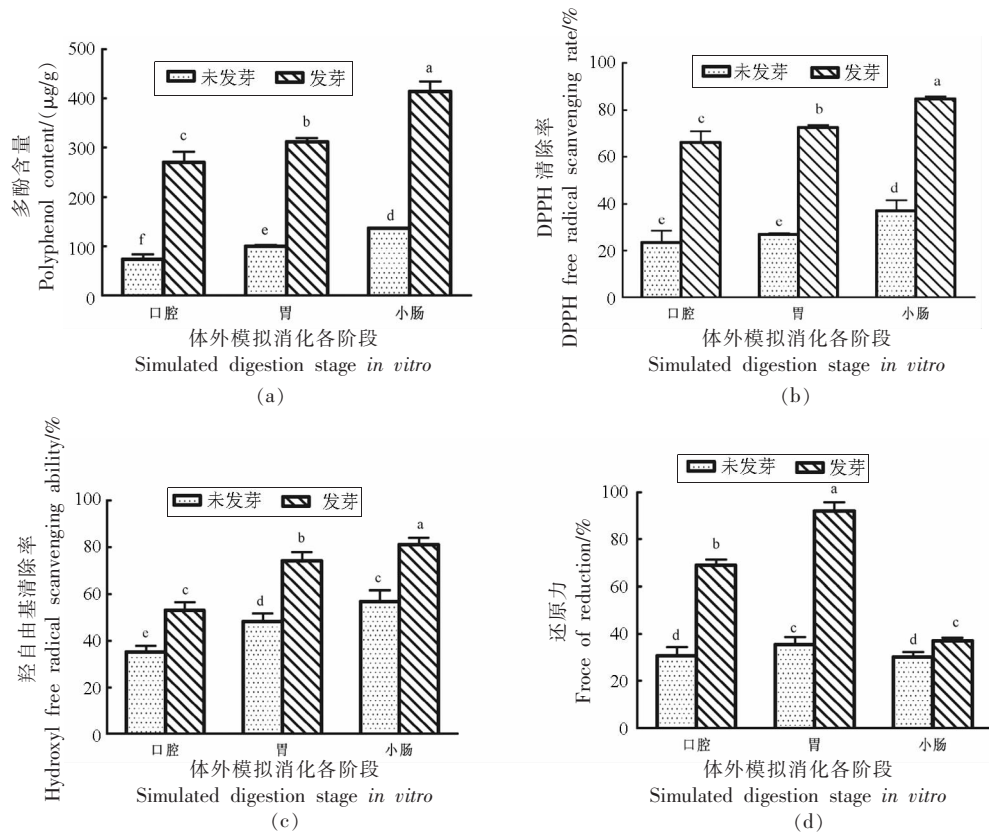


图3 不同处理莜麦在体外模拟消化阶段多酚含量及抗氧化性的比较

Fig.3 Comparison of polyphenol content and antioxidant activity of naked oats under different treatments during simulated digestion stage *in vitro*

在体外模拟消化阶段,多酚在口腔、胃、小肠内的含量依次升高,小肠消化后多酚含量显著增加($P<0.05$)(图 3a)。一方面可能是由于胰酶能够促进羧基的断裂、水解酯键,从而增加结合态多酚的释放;另一方面,莜麦中的多酚可能在肠消化液中较稳定,不易被分解。这与倪香艳等^[24]、张杰等^[25]的研究结果一致。向卓亚等^[26]研究发现,藜麦中的多酚类物质在消化阶段释放量的大小顺序依次为口腔、小肠、胃,这与本研究的结果相反。造成这种差异的原因可能是由于不同品种间多酚种类及性质的不同;另一方面,藜麦中的多酚可能在酶及酸性环境下稳定性较差,导致多酚的降解量大于其释放量^[27]。

此外,在口腔、胃、肠消化液内,未发芽莜麦多酚含量依次为 73.74,99.93,137.03 $\mu\text{g/g}$,发芽莜麦中的含量依次为 269.92,312.34,414.63 $\mu\text{g/g}$,分别是未发芽莜麦的 3.66 倍、3.12 倍、3.02 倍(图 3a)。以上数据表明发芽使莜麦多酚在消化道内的含量显著增加($P<0.05$)。这可能是由于发芽使莜麦细胞壁表面出现褶皱和气孔,结构变得蓬松,更易于消化酶作用,与细胞壁结合的多酚易于释放,从而使得多酚在消化道含量增加^[28]。

DPPH 自由基清除能力在模拟小肠消化阶段达到最大。发芽莜麦在口腔、胃、小肠消化液中 DPPH 自由基清除率分别为 66.29%,72.42%,84.80%,增加了 18.51%;未发芽莜麦依次为 23.43%,26.99%,36.86%,增加了 13.43%,(图 3b)。羟自由基清除能力在模拟小肠消化阶段达到

最大。发芽莜麦在口腔、胃、小肠消化液中的羟自由基清除率依次为 53.15%,74.21%,81.20%,增加了 28.05%;而未发芽莜麦中的相应值分别为 35.33%,48.37%,54.00%,增加了 18.67%(图 3c)。发芽莜麦的还原力依次为 69.10%,92.17%,37.03%,增加了 55.14%,未发芽莜麦相应的值分别为 30.53%,35.57%,30.17%,增加了 5.4%(图 3d)。还原力在模拟胃消化阶段达到最大,这与陈壁等^[8]的结果基本相同。

对比以上数据可以看出,在同一消化阶段,发芽莜麦的多酚含量及自由基清除能力要高于未发芽莜麦;并且,在整个消化阶段,发芽莜麦中的多酚含量及自由基清除率的增加幅度要远大于未发芽莜麦。以上数据表明发芽可增加莜麦中多酚等抗氧化成分在消化道内的释放。这可能由于发芽使得莜麦致密的细胞壁网络结构初步降解,之后在胃肠消化道内酸碱环境和消化酶的作用下,促进了多酚、黄酮等抗氧化活性成分从食物基质中释放出来^[29],从而使得消化阶段抗氧化能力显著提升。

2.2.2 不同处理莜麦体外模拟消化过程中多酚与抗氧化能力的生物可及性比较 发芽对莜麦多酚及抗氧化能力生物可及性的影响结果见表 1。由表 1 可知,不同处理莜麦中的多酚、DPPH 自由基清除率、羟自由基清除率的生物可及性在口腔、胃、小肠消化阶段均呈逐渐上升趋势,这与消化液中的多酚含量及抗氧化活性的变化趋势相一致。表明体外消化有利于提高莜麦中多酚等抗氧化组

表 1 不同处理莜麦体外模拟消化过程中多酚与抗氧化能力的生物可及性比较

Table 1 Comparison of bioaccessibility of polyphenols and antioxidant capacity in naked oats under different treatments during simulated digestion *in vitro*

生物可及性/%		消化阶段		
		口腔	胃	小肠
未发芽	总酚含量	12.45 ± 0.30 ^{bC}	16.88 ± 0.28 ^{bB}	23.14 ± 0.05 ^{eA}
	DPPH 自由基清除率	31.00 ± 2.37 ^{cC}	35.71 ± 0.57 ^{eB}	48.77 ± 5.01 ^{eA}
	羟自由基清除率	55.52 ± 3.40 ^{bC}	76.02 ± 4.45 ^{bB}	89.31 ± 6.07 ^{bA}
	还原力	47.86 ± 5.04 ^{bB}	55.75 ± 3.78 ^{dA}	47.28 ± 2.48 ^{eB}
发芽	总酚含量	20.92 ± 0.40 ^{cC}	24.21 ± 0.49 ^{bB}	32.13 ± 1.23 ^{dA}
	DPPH 自由基清除率	75.46 ± 4.20 ^{bC}	82.43 ± 1.06 ^{bB}	96.52 ± 0.97 ^{aA}
	羟自由基清除率	70.62 ± 3.72 ^{cC}	93.60 ± 4.10 ^{bB}	98.88 ± 3.27 ^{aA}
	还原力	84.14 ± 2.51 ^{aB}	95.57 ± 3.91 ^{aA}	50.45 ± 1.40 ^{cC}

注:表中不同小写字母表示每列差异显著($P<0.05$);不同大写字母表示每行差异显著($P<0.05$)。

分的生物可及性。唐琦等^[30]指出,模拟消化液中胃蛋白酶和胰蛋白酶等能促进多酚物质的释放,增加其抗氧化活性和生物可及性,与本研究结果相吻合。

同时,由表1还可以看出,发芽莜麦多酚生物可及性在小肠消化时达到最高(32.13%),比未发芽莜麦(23.14%)高8.99%。发芽莜麦DPPH自由基清除率生物可及性在小肠消化时达到最高(96.52%),高出未发芽莜麦(48.77%)47.75%。羟自由基清除率生物可及性在小肠消化时最高,此时,发芽莜麦为98.88%,比未发芽莜麦(89.31%)高出9.57%。还原力生物可及性在胃消化时最高,此时,发芽莜麦为95.57%,比未发芽莜麦(55.75%)高39.82%。以上数据表明,发芽提高了莜麦多酚在胃肠消化道内的生物可及性,同时也提高了抗

氧化能力的生物可及性。这可能是由于发芽过程中产生的阿魏酸酯酶和木聚糖酶等可以破坏细胞壁或者切断多酚与膳食纤维之间交联的共价键,然后在胃肠道消化酶的作用下共价键进一步断裂,促进酚类物质的释放,从而提高了多酚及抗氧化能力在消化过程中的生物可及性。

2.3 结肠发酵

2.3.1 不同处理莜麦消化残渣在结肠发酵过程中多酚及抗氧化活性比较 由于莜麦中结合态多酚与细胞壁基质共价结合,不能被胃肠道消化酶消化,随膳食纤维进入到结肠后在结肠微生物的作用下释放。因此,本研究采用结肠发酵模型对不同处理莜麦消化残渣在结肠发酵液中的多酚含量及抗氧化能力进行比较,结果见图4。

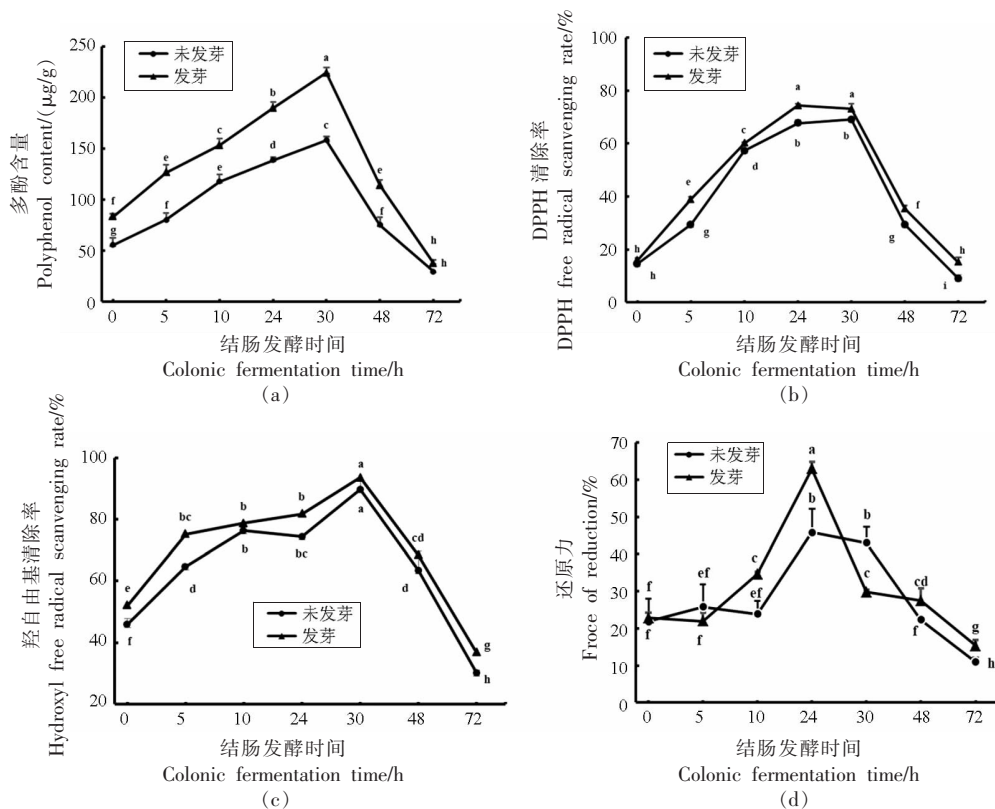


图4 不同处理莜麦消化残渣在结肠发酵过程中多酚及抗氧化活性比较

Fig.4 Comparison of polyphenol and antioxidant activity during colonic fermentation of naked oats digestive residue under different treatments

通过图4可以看出,发芽莜麦与未发芽莜麦消化残渣在结肠发酵过程中总酚含量、DPPH自由基清除率、羟自由基清除率及还原力均呈先升

后降低的趋势,在发酵24~30h时达到最大,30h后上述指标开始下降,原因可能是在发酵后期由于结肠发酵微生物的分解作用导致多酚被降解

或转化成小分子物质,导致多酚含量降低,抗氧化能力下降。这与邹青飞等^[19]的研究结果一致。并且,发芽莜麦消化残渣在发酵 30 h 总酚含量比未发芽莜麦消化残渣的高 141%,DPPH 自由基清除率在发酵 24 h 比未发芽莜麦消化残渣的高 6.63%,羟自由基清除率在发酵 30 h 时比未发芽莜麦消化残渣的高约 5%,还原力在发酵 24 h 时高 17.82%,由此可以看出:在整个结肠发酵阶段,发芽莜麦消化残渣中的多酚含量、自由基清除能力均显著高于未发芽莜麦($P<0.05$)。表明在结肠发酵阶段,发芽莜麦消化残渣中含有更多的抗氧化活性成分。这是因为发芽过程中细胞分裂,细胞壁延伸会诱导酚类化合物转移到细胞壁上^[31],在结肠发酵阶段微生物产生的酶系对细胞壁进行降解,结合态多酚进一步释放,使得发芽莜麦在结肠内的多酚含量及抗氧化活性增加^[32]。

结合图 3 可以看出,发芽莜麦在消化时多酚含量峰值为 414.63 $\mu\text{g/g}$,DPPH 自由基清除率峰值为 84.80%,还原力峰值为 92.17%,结肠发酵时

的相应值分别为 223.80 $\mu\text{g/g}$ 、74.37%、62.97%。对比以上数据可以看出,发芽莜麦在胃肠消化阶段的多酚含量、DPPH 自由基清除率、还原力的峰值均高于结肠发酵阶段。而未发芽莜麦在胃肠消化阶段的多酚含量、DPPH 自由基清除率、还原力峰值均小于结肠发酵阶段的对应值。以上数据说明,对于未发芽莜麦而言,结肠中释放的多酚等抗氧化组分高于消化道;对于发芽莜麦而言,多酚等抗氧化组分在胃肠消化道的含量大于结肠中的含量。

2.3.2 不同处理莜麦消化残渣在结肠发酵过程中多酚及抗氧化活性生物可及性比较 不同处理莜麦消化残渣在结肠发酵过程中多酚及抗氧化活性生物可及性比较结果如图 5 所示。由图 5 可以看出:在整个结肠发酵阶段,多酚及抗氧化能力的生物可及性均为先上升再下降的趋势,在发酵 24~30 h 时达到峰值,这与青稞^[8]、咖啡残渣^[33]结肠发酵时得到的结果相一致。另外,除还原力外,未发芽莜麦消化残渣中多酚及抗氧化活性的生物可及

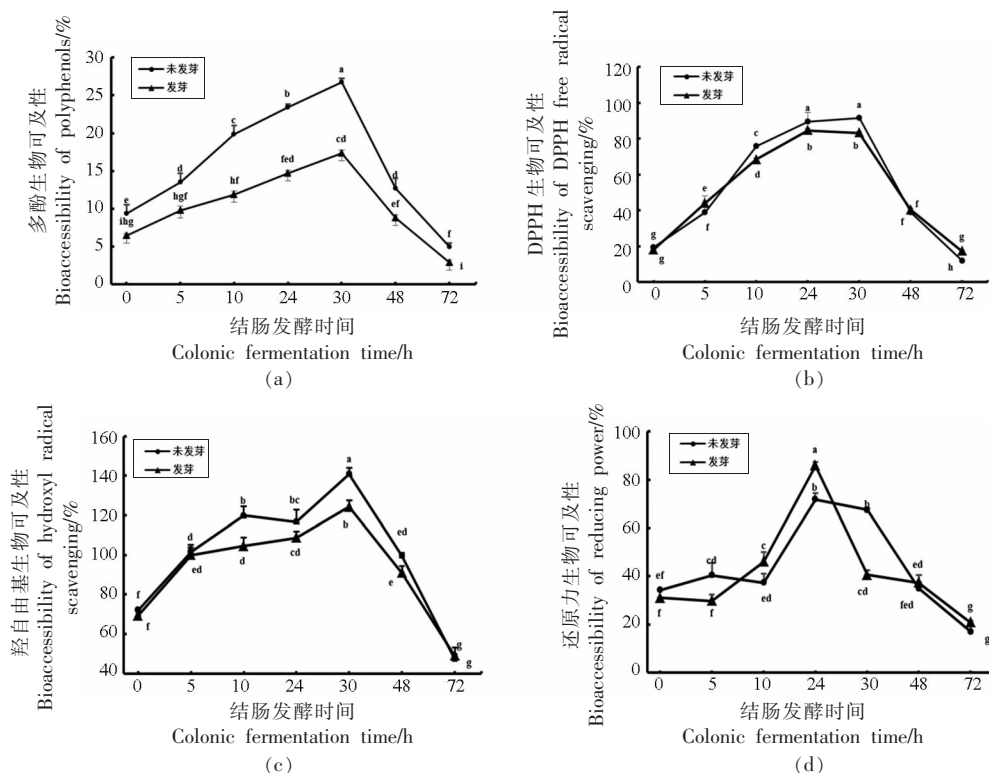


图 5 不同处理莜麦消化残渣在结肠发酵过程中多酚及抗氧化活性生物可及性比较

Fig.5 Comparison of bioaccessibility of polyphenols and antioxidant activities during colonic fermentation of naked oats digestive residue under different treatments

性在整个结肠发酵期间均显著高于发芽莜麦消化残渣 ($P < 0.05$)。在结肠发酵 30 h 时,未发芽莜麦消化残渣多酚生物可及性比发芽莜麦消化残渣的高 8.83%,DPPH 自由基清除力生物可及性比发芽莜麦消化残渣的高 8.16%。羟自由基清除率生物可及性比发芽莜麦消化残渣的高 16.68%。以上数据说明,未发芽莜麦消化残渣在结肠发酵阶段多酚生物可及性高于发芽莜麦消化残渣。

结合表 1 数据可以看出,对于未发芽莜麦,多酚、抗氧化活性在结肠发酵阶段的生物可及性比胃肠消化道内的高。这主要与莜麦中结合态多酚的存在状态有关,与其不易消化进入结肠发酵被释放的事实相吻合。对于发芽莜麦,结肠发酵阶段的生物可及性虽然比未发芽莜麦低,但其与胃肠消化过程中多酚及抗氧化活性的生物可及性几乎相当。表明发芽不仅提高了莜麦多酚在胃肠消化道中的生物可及性,也能使多酚等抗氧化组分在结肠中保持较高的生物可及性。

2.4 阿魏酸在体外消化及结肠发酵中含量的变化

莜麦中含有多种酚类化合物,为了进一步比较不同处理莜麦在体外消化及结肠发酵时酚类物质的含量,本研究选取莜麦中含量最多的酚酸——阿魏酸(占总酚酸的 90%)(Andreasen et al., 2000)为代表进行跟踪研究,结果见表 2。对于未发芽莜麦,阿魏酸在口腔、胃和小肠消化液中阿魏酸含量较少,与 Kroon 等^[34]在小麦研究中得出的结论相一致;在结肠发酵时的含量显著高于其它消化阶段,这与未发芽莜麦多酚在结肠内的生物可及性较高的结果相一致。这是由于阿魏酸主要以酯的形式连接到阿拉伯糖侧链分子残基上^[35],

以结合态存在于细胞壁中^[36],形成致密的网络结构,很难被消化道内的酶作用,可被结肠微生物代谢的酶作用而释放出较多的游离态阿魏酸。

相比之下,发芽莜麦在体外模拟消化阶段阿魏酸的含量要显著高于未发芽莜麦 ($P < 0.05$),这可能与莜麦发芽过程中阿魏酸酯酶和木聚糖酶活力较高有助于阿魏酸的释放有关。这为发芽有助于莜麦结合态阿魏酸在消化道内的释放提供了有力证据。另外,对于发芽莜麦,在结肠发酵时阿魏酸的含量与肠消化液中的含量基本相当。Duenas 等^[37]、Wang 等^[38]在研究黑豆和黑米时发现,发芽过程中阿魏酸等结合酚可能在萌发时由于活性酶的作用而增加,新生成的结合态阿魏酸含量的增加导致结肠发酵时阿魏酸含量也较高。另外,经体外消化、结肠发酵后的消化液或发酵液是一个相对复杂的体系,其抗氧化能力除了与酚类物质有关,还可能受到体系中其它物质的影响。本研究只对阿魏酸含量进行了研究,未来应对体外消化和结肠发酵阶段咖啡酸、对香豆酸和黄酮类等抗氧化成分的变化进一步展开系统研究。

3 结论

在体外模拟消化阶段,除还原力外,不同处理莜麦中的多酚、DPPH 自由基清除率、羟自由基清除率的生物可及性的顺序依次为:肠>胃>口腔。与未发芽莜麦相比,发芽莜麦消化后多酚生物可及性提高 8.99%,DPPH 自由基清除率生物可及性提高 47.75%,羟自由基清除率生物可及性提高 9.57%,还原力生物可及性提高 39.82%。在结肠发酵阶段,发芽莜麦消化残渣中的多酚及抗氧化活性生物可及性比未发芽莜麦消化残渣的有所降低,但其与胃肠消化阶段多酚及抗氧化活性的生物可及性几乎相当。表明发芽不仅能显著提高莜麦多酚及抗氧化活性在胃肠消化道中的生物可及性,也能使多酚等抗氧化组分在结肠发酵中保持较高的生物可及性,这为谷物多酚生物利用度的提高提供依据。

参 考 文 献

- [1] BOUDET A M. Evolution and current status of re-

表 2 不同消化阶段阿魏酸的含量 ($\mu\text{g/g}$)

Table 2 The concentrations of ferulic acid during different stages of digestion ($\mu\text{g/g}$)

消化阶段	未发芽莜麦	发芽莜麦
消化前	5.13 ± 0.36 ^{ab}	12.41 ± 0.43 ^{da}
口腔	7.98 ± 0.61 ^{db}	15.02 ± 0.38 ^{ca}
胃	13.93 ± 1.80 ^{cb}	41.26 ± 3.23 ^{ba}
小肠	30.71 ± 2.56 ^{bb}	109.34 ± 5.96 ^a
结肠发酵 30 h	125.41 ± 3.69 ^a	103.18 ± 3.29 ^{ab}

注:表中不同小写字母表示每列差异显著 ($P < 0.05$);不同大写字母表示每行差异显著 ($P < 0.05$)。

- search in phenolic compounds[J]. *Phytochemistry*, 2007, 68(22/23/24): 2722–2735.
- [2] LV J L, YU L, NIU Y G, et al. Effect of genotype, environment, and their interaction on phytochemical compositions and antioxidant properties of soft winter wheat flour[J]. *Food Chemistry*, 2013, 138(1): 454–462.
- [3] LV J L, YU LU, LU Y J, et al. Phytochemical compositions, and antioxidant properties, and antiproliferative activities of wheat flour[J]. *Food Chemistry*, 2012, 135(2): 325–331.
- [4] DING J, JOHNSON J, CHU Y F, et al. Enhancement of γ -aminobutyric acid, avenanthramides, and other health-promoting metabolites in germinating oats (*Avena sativa* L.) treated with and without power ultrasound[J]. *Food Chemistry*, 2019, 283: 239–247.
- [5] JUÁNIZ I, LUDWIG I A, BRESCIANI L, et al. Bioaccessibility of (poly)phenolic compounds of raw and cooked cardoon (*Cynara cardunculus* L.) after simulated gastrointestinal digestion and fermentation by human colonic microbiota[J]. *Journal of Functional Foods*, 2017, 32: 195–207.
- [6] MARTÍNEZ-VILLALUENGA C, PENAS E. Health benefits of oat: current evidence and molecular mechanisms[J]. *Current Opinion in Food Science*, 2017, 14: 26–31.
- [7] LI Y, LI M, WANG L, et al. Effect of particle size on the release behavior and functional properties of wheat bran phenolic compounds during *in vitro* gastrointestinal digestion[J]. *Food Chemistry*, 2022, 367: 130751.
- [8] 陈壁, 黄勇桦, 张建平, 等. 体外模拟胃肠道消化和结肠发酵对长黑青稞多酚生物有效性和抗氧化活性的影响[J]. *食品科学*, 2020, 41(21): 28–35.
- CHEN B, HUANG Y H, ZHANG J P, et al. Effects of *in vitro* gastrointestinal digestion and colonic fermentation on bioavailability and antioxidant activity of phenolic compounds in Changhei Hulless Barley[J]. *Food Science*, 2020, 41(21): 28–35.
- [9] ADAM A, CRESPI V, LEVRAT-VERNY M A, et al. The bioavailability of ferulic acid is governed primarily by the food matrix rather than its metabolism in intestine and liver in rats[J]. *The Journal of nutrition*, 2002, 132(7): 1962–1968.
- [10] WANG T, HE F L, CHEN G B. Improving bioaccessibility and bioavailability of phenolic compounds in cereal grains through processing technologies: A concise review[J]. *Journal of Functional Foods*, 2014, 7(1): 101–111.
- [11] LIM S, YUN C I, SONG D, et al. Validation of avenanthramide and other phenolic compounds in oats and sprouted oats and their antimicrobial properties against *Escherichia coli* O157:H7[J]. *Food Science and Biotechnology*, 2022, 31(9): 1145–1155.
- [12] TANG S Y, MAO G, YUAN Y, et al. Optimization of oat seed steeping and germination temperatures to maximize nutrient content and antioxidant activity[J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2020, 44(9): e14683.
- [13] 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(15): 6536–6546.
- [14] MINEKUS M, ALMINGER M, ALVITO P, et al. A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food—an international consensus[J]. *Food & Function*, 2014, 5(6): 1113–1124.
- [15] 王祥锋, 汪乔, 袁慧君, 等. 高产阿魏酸酯酶菌株的筛选鉴定及其酶活测定条件优化[J]. *生物技术通报*, 2020, 36(10): 135–141.
- WANG X F, WANG Q, YUAN H J, et al. Screening and identification of high-yield feruloyl esterase strains and optimizing of the enzyme activity assay conditions[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2020, 36(10): 135–141.
- [16] SINGH A, YADAV R D, KAUR A, et al. An ecofriendly cost effective enzymatic methodology for deinking of school waste paper[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 120: 322–327.
- [17] 李明华, 孟秀梅, 王成龙. 纤维素酶高产菌筛选鉴定及酶学性质初步研究[J]. *中国酿造*, 2021, 40(8): 134–138.
- LI M H, MENG X M, WANG C L. Screening and identification of high-producing cellulose strain and enzymatic property[J]. *China Brewing*, 2021, 40(8): 134–138.
- [18] 孙梦莹, 石林凡, 任中阳, 等. 欧洲鳗肌肉蛋白营养评价及体外模拟消化特性[J]. *中国食品学报*, 2022, 22(6): 315–322.

- SUN M Y, SHI L F, REN Z Y, et al. Nutritional evaluation and *in vitro* digestion characteristics of muscle protein in European Eel [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2022, 22(6): 315-322.
- [19] 邹青飞, 杨士花, 李永强, 等. 体外结肠发酵对青稞膳食纤维中酚类化合物的含量及抗氧化活性的影响[J]. 食品科学, 2020, 41(2): 94-100.
- ZOU Q F, YANG S H, LI Y Q, et al. Effects of *in vitro* colonic fermentation on phenolic content and antioxidant activity in dietary fiber from highland barley[J]. Food Science, 2020, 41(2): 94-100.
- [20] 卢宇. 藜麦营养特性及其多酚化合物分离纯化和抗氧化活性研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2017.
- LU Y. Nutritional characteristic and polyphenol isolation purification and antioxidant activity of quinoa [D]. Huhhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2017.
- [21] LU Y J, LV J L, YU L, et al. Phytochemical composition and antiproliferative activities of bran fraction of ten Maryland-grown soft winter wheat cultivars: comparison of different radical scavenging assays[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2014, 36(1/2): 51-58.
- [22] 赵霞. 热加工和发芽处理对燕麦多酚含量和抗氧化性的影响[D]. 无锡: 江南大学, 2016.
- ZHAO X. Effect of thermal processing and germination on oat polyphenols and antioxidant activities [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2016.
- [23] 李贻, 贺君, 张鹏敏. 体外模拟胃肠道消化下刺梨抗氧化成分的释放[J]. 现代食品科技, 2020, 36(2): 102-107.
- LI Y, HE J, ZHANG P M. Antioxidant components release of *rosa roxburghii* Tratt by *in vitro* simulated gastrointestinal digestion[J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(2): 102-107.
- [24] 倪香艳, 钟葵, 佟立涛, 等. 糙米体外消化过程中酚类物质含量及抗氧化活性[J]. 食品科学, 2018, 39(16): 105-111.
- NI X Y, ZHONG K, TONG L T, et al. Changes in polyphenols content and antioxidant activity during *in vitro* digestion of brown rice[J]. Food Science, 2018, 39(16): 105-111.
- [25] 张杰, 党斌, 张文刚, 等. 体外模拟胃肠消化对不同加工方式黑青稞中酚类物质含量及抗氧化活性的影响[J]. 食品科学, 2022, 43(21): 78-86.
- ZHANG J, DANG B, ZHANG W G, et al. Effects of *in vitro* gastrointestinal digestion on phenolics content and antioxidant activity of black hulless barley in different processing methods[J]. Food Science, 2022, 43(21): 78-86.
- [26] 向卓亚, 邓俊琳, 陈建, 等. 藜麦体外模拟消化过程中酚类物质含量及抗氧化活性的变化[J]. 中国食品学报, 2021, 21(8): 283-290.
- XIANG Z Y, DENG J L, CHEN J, et al. The Changes of phenolic contents and antioxidant activity of Quinoa during simulated *in vitro* digestion [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2021, 21(8): 283-290.
- [27] SVEDSTROM U, VUORELA H, KOSTIAINEN R, et al. Fractionation of polyphenols in hawthorn into polymeric procyanidins, phenolic acids and flavonoids prior to high-performance liquid chromatographic analysis[J]. Journal of Chromatography A, 2006, 1112(1/2): 103-111.
- [28] AL-SHERAJI S H, ISMAIL A, MANAP M Y, et al. Functional properties and characterization of dietary fiber from *Mangifera pajang* kort. fruit pulp[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2011, 59(8): 3980-3985.
- [29] GULLON B, PINTADO M E, BARBER X, et al. Bioaccessibility, changes in the antioxidant potential and colonic fermentation of date pits and apple bagasse flours obtained from co-products during simulated *in vitro* gastrointestinal digestion[J]. Food Research International, 2015, 78: 169-176.
- [30] 唐琦, 胡广林, 刘金芳, 等. 体外模拟消化对萌发红小豆的抗氧化活性的分析[J]. 食品科技, 2018, 43(1): 67-71, 76.
- TANG Q, HU G L, LIU J F, et al. Determination of antioxidant activity of germinated red beans by stimulated gastrointestinal digestion[J]. Food Science and Technology, 2018, 43(1): 67-71, 76.
- [31] XU M W, RAO J J, CHEN B C. Phenolic compounds in germinated cereal and pulse seeds: Classification, transformation, and metabolic process[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2020, 60(5): 740-759.
- [32] 闵钟慢, 高路, 高育哲, 等. 黑曲霉发酵法制备米糠粕可溶性膳食纤维工艺优化及其理化分析[J]. 食品科学, 2018, 39(2): 112-118.

- MIN Z M, GAO L, GAO Y Z, et al. Optimization of the preparation process for soluble dietary fiber from rice bran by *Aspergillus niger* fermentation and its physicochemical properties[J]. Food Science, 2018, 39(2): 112–118.
- [33] CAMPOS -VEGA R, VAZQUEZ -SANCHEZ K, LOPEZ-BARRERA D, et al. Simulated gastrointestinal digestion and *in vitro* colonic fermentation of spent coffee (*Coffea arabica* L.): Bioaccessibility and intestinal permeability[J]. Food Research International, 2015, 77: 156–161.
- [34] KROON P A, FAULDS C B, RYDEN P, et al. Release of covalently bound ferulic acid from fiber in the human colon[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1997, 45(3): 661–667.
- [35] DEY T B, CHAKRABORTY S, JAIN K K, et al. Antioxidant phenolics and their microbial production by submerged and solid state fermentation process: a review[J]. Trends in Food Science & Technology, 2016, 53: 60–74.
- [36] ADOM K K, LIU R H. Antioxidant activity of grains[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2002, 50(21): 6182–6187.
- [37] DUENAS M, SARMENTO T, AGUILERA Y, et al. Impact of cooking and germination on phenolic composition and dietary fibre fractions in dark beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and lentils (*Lens culinaris* L.)[J]. Lwt -Food Science and Technology, 2016, 66: 72–78.
- [38] WANG J Q, HU S Z, NIE S P, et al. Reviews on mechanisms of *in vitro* antioxidant activity of polysaccharides[J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2016, 2016: 5692852.

Effects of Germination on Bioaccessibility of Polyphenols and Antioxidant Activities of Naked Oats

Lü Junli, Hou Lili, Yang Haopeng, Zhang Ledao

(School of Life Science & Technology, Inner Mongolia University of Science & Technology, Baotou 014010, Inner Mongolia)

Abstract In order to improve the bioaccessibility of polyphenols and antioxidant activity in naked oats, this study was conducted with *in vitro* simulated digestion model and colonic fermentation model to compare the changes of total phenol content and antioxidant activity of germinated and un-germinated naked oat at different digestion stages and colonic fermentation stage, and to further explore the bioaccessibility of sprouted naked oat. In the simulated digestion stage *in vitro*, the bioaccessibility of polyphenols, DPPH free radical scavenging and hydroxyl free radical scavenging in germinated naked oats were the highest in intestinal digestion, which were 8.99%, 47.75% and 9.57% higher than those of un-germinated naked oats, respectively. The bioaccessibility of reducing power was the highest during gastric digestion, which was 39.82% higher than un-germinated naked oat. At the colonic fermentation stage, the highest polyphenol content and antioxidant activity in digestive residue of naked oats were found at 24–30 h. The bioaccessibility of polyphenols, DPPH scavenging ability and hydroxyl free radical scavenging ability of un-germinated naked oat digestion residue were 8.83% higher than that of germinated naked oat digestion residue, 8.16% higher than that of germinated naked oat digestion residue, and 16.68% higher than that of germinated naked oat digestion residue. However, it is almost equal to the bioaccessibility of the gastrointestinal digestive stage. These results indicate that germination can not only significantly improve the bioaccessibility of naked oats polyphenols and antioxidant activities in the gastrointestinal tract, but also maintain relatively high bioaccessibility of polyphenols in colonic fermentation, which provided a new idea for improving the bioavailability of cereal polyphenols in human digestive tract.

Keywords germination; naked oats; polyphenols; antioxidant activity; bioaccessibility