

DOI: 10.12161/j.issn.1005-6521.2025.08.004

体外模拟刺梨多糖经胃肠道消化和酵解的产物及其抗氧化功能

张广米, 黄青青, 殷明月*, 吴冬艳, 黄倍倍, 付白花, 李磊, 王舟舟

(贵州医科大学 公共卫生与健康学院, 环境污染与疾病监控教育部重点实验室, 贵州 贵阳 550025)

摘要: 为了解刺梨多糖(*Rosa roxburghii* Tratt polysaccharides, RRTP)经体外模拟胃、小肠消化产物的总糖、还原糖含量, 结肠厌氧发酵产物的短链脂肪酸(short-chain fatty acids, SCFAs)种类及含量, 以及消化产物的抗氧化功能。该研究采用苯酚硫酸法测定总糖含量, 3,5-二硝基水杨酸(3,5-dinitrosalicylic acid, DNS)法测定还原糖含量, 气相色谱法测定 SCFAs 种类和含量; 利用比色法测定羟自由基($\cdot\text{OH}$)、DPPH 自由基和 ABTS⁺自由基的清除率。结果表明, RRTP 经体外模拟胃消化, 总糖和还原糖的含量总体上无变化; 经体外模拟小肠消化, 总糖含量下降, 消化 2 h 时还原糖含量上升, 之后趋于平稳; 经体外模拟结肠厌氧发酵, 总糖含量显著下降($P<0.05$), 还原糖含量在 12 h 内显著下降($P<0.05$)后趋于平稳, 并产生乙酸、丙酸和正丁酸等 SCFAs。RRTP 在体外模拟胃消化阶段, 其产物对 $\cdot\text{OH}$ 的清除率变化最明显, 呈现先升高后下降的趋势; 在小肠消化阶段, RRTP 产物对 $\cdot\text{OH}$ 和 ABTS⁺自由基的清除率在 6 h 时升高($P<0.05$); 在结肠厌氧发酵阶段, RRTP 产物对 DPPH 自由基的清除率变化最明显, 也呈现先升高又下降的趋势。综上, RRTP 在体外模拟胃阶段消化有限, 但能够在结肠被发酵分解并产生乙酸、丙酸和正丁酸等 SCFAs, 其体外消化产物具有较强的抗氧化功能且此功能会随着消化的进行而发生改变。

关键词: 刺梨; 多糖; 体外模拟胃肠消化; 短链脂肪酸; 抗氧化

Products of *in vitro* Simulated Gastrointestinal Digestion of *Rosa roxburghii* Tratt Polysaccharides and Their Antioxidant Function

ZHANG Guangmi, HUANG Qingqing, YIN Mingyue*, WU Dongyan, HUANG Beibei, FU Baihua, LI Lei, WANG Zhouzhou

(School of Public Health, Key Laboratory of Environmental Pollution Monitoring and Disease Control, Ministry of Education, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, Guizhou, China)

Abstract: This study aimed to understand the total sugar and reducing sugar content in the products of *in vitro* simulated gastric and small intestinal digestion of *Rosa roxburghii* Tratt polysaccharides (RRTP), the types and content of short-chain fatty acids (SCFAs) from colonic anaerobic fermentation products, and the antioxidant function of digestion products. The total sugar content was determined by the phenol-sulfuric acid method, and the reducing sugar content was determined by the 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) method. The types and content of SCFAs were determined by gas chromatography. The scavenging rates of hydroxyl free radical ($\cdot\text{OH}$), 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl free radical, and 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)⁺ free radical were determined by colorimetry. The results showed that the content of total sugar and reducing sugar in RRTP did not change after simulated gastric digestion *in vitro*. After simulated small intestinal digestion *in vitro*, the total sugar content decreased. After digestion for 2 h, the reducing sugar content increased and then leveled off. After simulated colonic anaerobic fermentation *in vitro*, the total sugar content decreased significantly ($P<0.05$), and the reducing sugar content decreased significantly within 12 h ($P<0.05$) and then leveled off, with SCFAs such as acetic acid, propionic acid, and *n*-butyric acid produced. In the simulated gastric digestion stage *in vitro*, the $\cdot\text{OH}$ scavenging rate of RRTP products changed most, showing a trend of first in-

基金项目: 贵州省科学技术厅科技计划项目(黔科合基础[2020]1Y320); 贵州医科大学 2020 年国基培育项目(20NSP062); 贵州省 2021 年大学生创新创业项目(202110660009)

作者简介: 张广米(1999—), 女(汉), 硕士在读, 研究方向: 食品营养与健康。

*通信作者: 殷明月(1981—), 女(汉), 副教授, 硕士, 研究方向: 食品营养与健康。

creasing and then decreasing. At the stage of small intestinal digestion, the scavenging rates of $\cdot\text{OH}$ and ABTS^+ free radicals by RRTP products increased at 6 h ($P<0.05$). In the anaerobic fermentation stage of colon, the scavenging rate of DPPH free radical by RRTP products changed most and also showed a trend of first increasing and then decreasing. In summary, the *in vitro* simulated gastric digestion of RRTP was limited, but they can be fermented and decomposed in the colon to produce SCFAs such as acetic acid, propionic acid, and *n*-butyric acid. Their *in vitro* digestion products had strong antioxidant function, and this function changed with the progress of digestion.

Key words: *Rosa roxburghii* Tratt; polysaccharide; *in vitro* simulated gastrointestinal digestion; short-chain fatty acid; antioxidant

引文格式:

张广米,黄青青,殷明月,等.体外模拟刺梨多糖经胃肠道消化和酵解的产物及其抗氧化功能[J].食品研究与开发,2025,46(8):31-38.

ZHANG Guangmi, HUANG Qingqing, YIN Mingyue, et al. Products of *in vitro* Simulated Gastrointestinal Digestion of *Rosa roxburghii* Tratt Polysaccharides and Their Antioxidant Function[J]. Food Research and Development, 2025, 46(8): 31-38.

刺梨(*Rosa roxburghii* Tratt)又名缫丝花、茨梨、送春归,为刺梨属蔷薇科多年生落叶小灌木,主要分布在中国西南部和中南部地区^[1]。贵州省是第一个开发和利用刺梨资源的省份,也是中国刺梨分布最广、产量最高的省份,刺梨是全省重点发展的特色农产品之一。

据《本草纲目》记载,刺梨的花、果、叶、籽作为中药应用已有悠久的历史。刺梨营养价值高,鲜果中含丰富的多糖、维生素C、维生素P、超氧化物歧化酶、过氧化物酶、多酚、刺梨黄酮、刺梨三萜、多种氨基酸以及微量元素等物质^[2-3],对于人体抗氧化反应、清除自由基、调节免疫功能、降血糖、降血脂和抗肿瘤等过程发挥重要作用^[4-7]。

刺梨多糖(*Rosa roxburghii* Tratt polysaccharides, RRTP)是从刺梨果实中提取的多糖类化合物,作为大分子物质难以在胃和小肠被人体消化吸收,进入结肠后被微生物发酵利用,并产生大量的短链脂肪酸(short-chain fatty acids, SCFAs),如乙酸、丙酸和正丁酸等^[8]。目前国内外主要是针对RRTP的功效进行研究。研究发现,RRTP具有抗氧化活性、神经营养活性、抗疲劳活性、提高免疫力、抗动脉粥样硬化、抗肿瘤活性、降血糖活性和影响肠道菌群等功效,具有极大的开发和应用潜力^[9-15]。但RRTP经胃肠道消化后产物功能方面的研究鲜见报道。因此,本研究旨在挖掘RRTP经体外模拟胃、小肠消化和结肠厌氧发酵后产物中总糖和还原糖含量的变化,以及结肠发酵后产生的SCFAs种类和含量,并探索各消化阶段产物的抗氧化功能,以期刺梨多糖的推广应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

刺梨果实:中国贵州省六盘水市;SCFAs标准品

(色谱纯)、2,2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸[2, 2'-azino-bis(3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid), ABTS]:上海麦克林生化科技股份有限公司;3,5-二硝基水杨酸(3,5-dinitrosalicylic acid, DNS)、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH):北京索莱宝科技有限公司;葡萄糖、水杨酸、硫酸亚铁:天津市科密欧化学试剂有限公司。以上化学试剂除特别说明外均为分析纯。

低速冷冻多管离心机(TDL-5000bR):上海安亭科学仪器厂;旋转蒸发器(RE-52):上海亚荣生化仪器厂;高压灭菌锅(GR85DA):致微(厦门)仪器有限公司;磁力搅拌水浴锅(HCJ-4E):常州朗越仪器制造有限公司;气相色谱仪(Q7890B)、DB-FATWAX UI色谱柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm):安捷伦科技(中国)有限公司;恒温振荡摇床(TS-111B):上海天呈试验仪器制造有限公司;笔式PH计(PH-10):上海力辰邦西仪器科技有限公司;酶标仪(Multiskan):上海蒲春计量仪器有限公司。

1.2 RRTP的提取

参考文献[16]中的超声辅助酶法提取RRTP。

1.3 体外模拟胃液和小肠液的配制

参考文献[17-18]的方法配制模拟胃液和小肠液。

1.4 体外模拟RRTP在胃液中的消化

胃液和RRTP液(10 mg/mL)按照体积比1:1混匀,置于恒温振荡摇床中(37℃, 120 r/min)进行体外模拟胃的消化。分别在消化0、2、4、6 h时,从反应体系中取4 mL消化液,沸水浴灭活6 min, 4 000 r/min离心10 min后收集上清液,用于检测总糖、还原糖的含量以及产物的抗氧化功能。

1.5 体外模拟RRTP在小肠液中的消化

将上述体外模拟胃消化6 h后的RRTP液用

1 mol/L NaHCO₃ 调节 pH 值至 7.0, 然后将小肠液和 RRTP 胃消化液按照体积比 10:3 置于恒温振荡摇床中(37 °C, 120 r/min)进行体外模拟小肠消化。分别在消化时间 0、2、4、6 h 时, 从反应体系中取 4 mL RRTP 消化液沸水浴灭活 6 min, 4 000 r/min 离心 10 min 后收集上清液, 用于检测总糖、还原糖的含量以及产物的抗氧化功能。

1.6 体外模拟 RRTP 在结肠的厌氧发酵

参照文献[19-20]的方法配制结肠发酵培养基。取 3 名健康志愿者的粪便, 要求没有任何胃肠道疾病, 在过去 6 个月内未服用过抗生素、益生菌或益生元。在超净台内将 3 名志愿者的新鲜粪便样品混合, 并按照 1:10(g/mL)的比例添加 0.1 mol/L pH 值为 6.8 的磷酸缓冲液稀释粪便, 4 000 r/min 离心 10 min 后得到粪便悬液。最终体外厌氧发酵液组成为 40% 结肠发酵培养基、20% RRTP 液和 40% 粪便液, 利用密封箱和厌氧产气包自制发酵装置, 于恒温振荡摇床(37 °C, 200 r/min)厌氧发酵 48 h。在 0、6、12、24、48 h 分别收集 4 mL 发酵液放入沸水浴中 6 min 灭活微生物, 再次离心(4 000 r/min, 10 min), 收集上清液用于检测总糖、还原糖的含量、SCFAs 种类和含量以及产物的抗氧化功能。

1.7 总糖含量的测定

采用苯酚硫酸法测定总糖含量, 具体步骤参考文献[21]的方法, 绘制标准曲线方程为 $y=0.523x+0.0661$ ($R^2=0.9995$)。

1.8 还原糖含量的测定

采用 3,5-二硝基水杨酸(3,5-dinitrosalicylic acid, DNS)测定还原糖含量, 具体步骤参考文献[22]的方法, 绘制标准曲线方程为 $y=0.7376x+0.046$ ($R^2=0.9996$)。

1.9 SCFAs 种类和含量的测定

采用气相色谱法测定 RRTP 结肠发酵产物中的 SCFAs, 色谱条件参考文献[23]方法, 如表 1 所示。

表 1 色谱工作参数

Table 1 Chromatographic parameters

条件	工作参数
色谱柱	DB-FATWAX UI (30 m×0.25 mm×0.25 μm)
检测器类型及温度	氢火焰离子化检测器, 250 °C
色谱柱温度, 进样口温度	90 °C, 200 °C
载气及流速	氮气, 17.6 mL/min
进样量	1 μL
分流比	8:1
升温程序	初始温度 90 °C, 持续 1 min; 60 °C/min 升温到 170 °C, 15 °C/min 升温到 200 °C, 20 °C/min 升温至 220 °C

标准曲线的绘制: 用去离子水配制不同浓度的 SCFAs 混标溶液, 经 0.22 μm 滤膜过滤后, 按表 1 条件

上机测试, 记录其保留时间和峰面积。以各 SCFAs 的浓度(mg/mL)为横坐标, 以对应峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线。

发酵液中 SCFAs 的测定: 离心(4 000 r/min, 10 min)后的发酵液用 0.22 μm 水相滤膜过滤, 按表 1 条件上机检测, 记录各峰保留时间和峰面积, 对照 SCFAs 的标准曲线, 计算发酵液中各 SCFAs 的含量。

加标回收率的测定: 在待测 RRTP 发酵液中加入标准品, 采用上述色谱条件进行检测, 按照公式(1)计算回收率($M_1, \%$), 按照公式(2)计算相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)。

$$M_1 = \frac{A_1 - A_2}{A_3} \times 100 \quad (1)$$

$$R = \frac{S}{\bar{X}} \times 100 \quad (2)$$

式中: A_1 为加标值峰面积; A_2 为试样值峰面积; A_3 为标准品峰面积; R 为相对标准偏差, %; S 为标准偏差; \bar{X} 为平均值。

1.10 RRTP 消化产物抗氧化功能的检测

1.10.1 ·OH 清除率的检测

参考文献[24]的方法并稍作修改, 在试管中加入等量的 9 mmol/L H₂O₂、9 mmol/L FeSO₄、9 mmol/L 水杨酸-乙醇溶液及待测样品, 混匀, 37 °C 水浴 30 min, 在 510 nm 下测量吸光度。按照公式(3)计算·OH 清除率($Y_1, \%$)。

$$Y_1 = \left(1 - \frac{A_x - A_{x_0}}{A_0}\right) \times 100 \quad (3)$$

式中: A_x 为样品组的吸光度; A_0 为空白组的吸光度(以蒸馏水代替样品); A_{x_0} 为对照组的吸光度(以蒸馏水代替 H₂O₂)。

1.10.2 DPPH 自由基清除率的检测

参考文献[25]的方法并稍作修改, 取 100 μL 样品溶液和 100 μL 75 μmol/L 的 DPPH 溶液混合后, 加入 96 孔板中暗室静置 30 min, 用酶标仪在 517 nm 处测定吸光度, 记为 A_x , 同一操作下获得 A_0 和 A_{x_0} 。按照公式(4)计算 DPPH 自由基清除率($Y_2, \%$)。

$$Y_2 = \left(1 - \frac{A_x - A_{x_0}}{A_0}\right) \times 100 \quad (4)$$

式中: A_x 为样品组的吸光度; A_0 为空白组的吸光度(以无水乙醇代替样品); A_{x_0} 为对照组的吸光度(以无水乙醇代替 DPPH)。

1.10.3 ABTS⁺自由基清除率的检测

参考文献[26]的方法并稍作修改, 将等量的 7 mmol/L 的 ABTS 溶液与 2.45 mmol/L 的过硫酸钾溶液混合后, 避光静置 12~16 h 作为工作液。于 96 孔板中加入 20 μL 样品溶液和 150 μL ABTS 工作液, 混匀

后静置 6 min, 测定 734 nm 处吸光度。按照公式(5)计算 ABTS⁺自由基清除率($Y_3, \%$)。

$$Y_3 = \left(1 - \frac{A_1}{A_2}\right) \times 100 \quad (5)$$

式中: A_1 为样品溶液的吸光度; A_2 为空白组的吸光度。

1.11 数据处理

所有试验数据重复 3 次, 结果表示为平均值±标准差, 使用 SPSS 28.0 软件进行单因素方差分析, Graph-Pad Prism 10.1 软件进行作图。满足方差齐性时, 两两比较采用 Student-Newman-Keuls 检验; 不满足方差齐性时, 两两比较采用 Dunnett's T3 法, $P < 0.05$ 时差异显著。

2 结果与分析

2.1 RRTP 经胃和小肠消化产物中总糖和还原糖的含量

RRTP 经胃和小肠消化后总糖和还原糖的含量见表 2 和表 3。

表 2 RRTP 经胃消化后总糖和还原糖的含量

Table 2 Total sugar and reducing sugar content of RRTP after digestion by stomach

消化时间/h	总糖含量/(mg/mL)	还原糖含量/(mg/mL)
0	1.693±0.008 ^a	0.845±0.041 ^a
2	1.559±0.006 ^b	0.739±0.054 ^b
4	1.689±0.003 ^a	0.833±0.031 ^a
6	1.700±0.006 ^a	0.891±0.033 ^a

注: 同列不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

表 3 RRTP 经小肠消化后总糖和还原糖的含量

Table 3 Total sugar and reducing sugar content of RRTP after digestion by small intestine

消化时间/h	总糖含量/(mg/mL)	还原糖含量/(mg/mL)
0	1.775±0.002 ^a	0.786±0.049 ^b
2	1.635±0.005 ^b	1.024±0.012 ^a
4	1.489±0.002 ^d	1.042±0.038 ^a
6	1.603±0.003 ^c	1.090±0.040 ^a

注: 同列不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

由表 2 可知, 在体外模拟胃消化阶段, 与 0 h 相比, 消化 2 h 时产物中总糖和还原糖含量显著下降($P < 0.05$), 之后 4、6 h 又上升至与 0 h 无差异。由表 3 可知, 在体外模拟小肠消化阶段, 与 0 h 相比, 2、4、6 h 时总糖含量显著下降($P < 0.05$), 还原糖含量在消化 2 h 时显著升高($P < 0.05$), 之后趋于平稳。

2.2 RRTP 经厌氧发酵产物中总糖和还原糖含量变化

RRTP 经体外模拟厌氧发酵产物中总糖和还原糖含量的变化见表 4。

表 4 RRTP 厌氧发酵产物中总糖和还原糖含量

Table 4 Content of total sugar and reducing sugar in anaerobic fermentation products of RRTP

发酵时间/h	总糖含量/(mg/mL)	还原糖含量/(mg/mL)
0	0.908±0.006 ^a	0.512±0.022 ^a
6	0.351±0.001 ^b	0.211±0.014 ^b
12	0.257±0.006 ^c	0.121±0.008 ^c
24	0.243±0.009 ^d	0.122±0.012 ^c
48	0.210±0.008 ^e	0.102±0.002 ^c

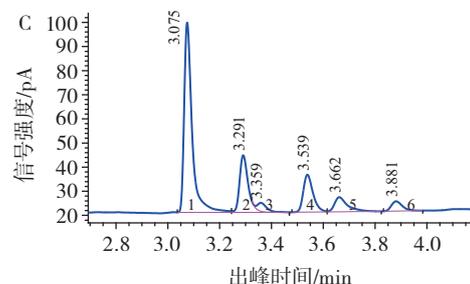
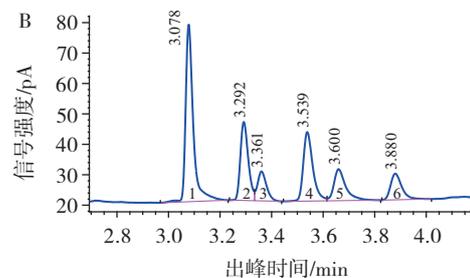
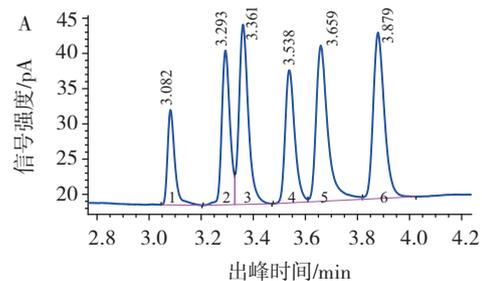
注: 同列不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

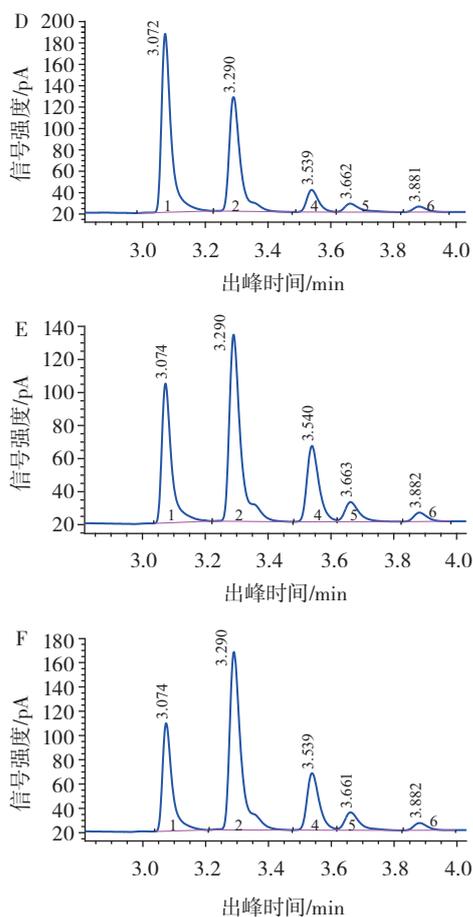
由表 4 可知, 与 0 h 相比, RRTP 经体外模拟厌氧发酵 6~48 h 时, 产物中总糖含量呈显著下降的趋势($P < 0.05$); 还原糖含量也在发酵 6、12 h 时显著下降($P < 0.05$), 之后趋于平稳。综上, RRTP 可以在结肠被发酵分解, 被肠道微生物所利用。

2.3 气相色谱法检测 RRTP 结肠厌氧发酵产物的 SCFAs 种类

SCFAs 标准品和 RRTP 结肠厌氧发酵产物不同发酵时间的气相色谱图见图 1。

由图 1 可知, RRTP 在体外厌氧发酵 0 h 和 6 h 时可以分离出乙酸、丙酸、异丁酸、正丁酸、异戊酸和正戊酸 6 个 SCFAs, 其中乙酸的峰面积最大; 发酵 12、24 h 和 48 h 可以分离出乙酸、丙酸、正丁酸、异戊酸和正戊酸 5 个 SCFAs, 其中乙酸和丙酸的峰面积较大。





A 为 SCFAs 标准品气相色谱图;B-F 分别为 RRTP 厌氧发酵 0、6、12、24 h 和 48 h 气相色谱图。1. 乙酸;2. 丙酸;3. 异丁酸;4. 正丁酸;5. 异戊酸;6. 正戊酸。

图 1 SCFAs 标准品和 RRTP 结肠厌氧发酵产物不同发酵时间的气相色谱图

Fig.1 Gas chromatograms of SCFAs standards and colonic anaerobic fermentation products of RRTP

2.4 各 SCFAs 的标准曲线

RRTP 厌氧发酵产物中分离出的 6 个 SCFAs 的标准曲线见表 5。

表 5 各 SCFAs 的标准曲线
Table 5 Standard curves of SCFAs

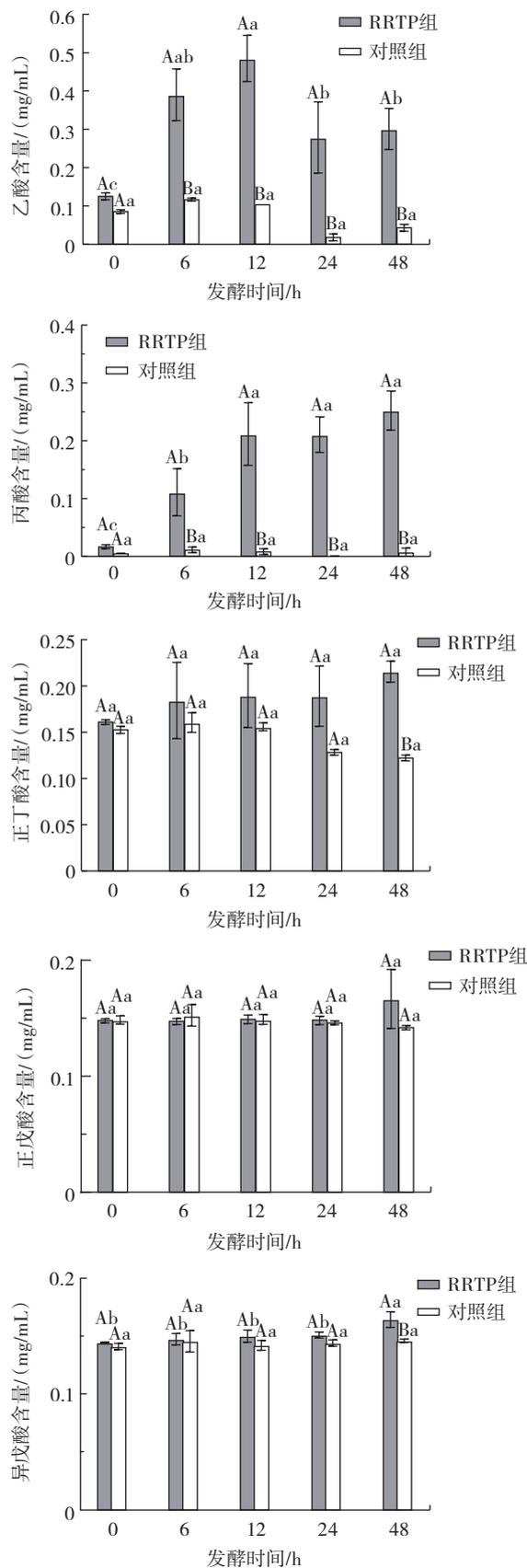
短链脂肪酸	保留时间/min	标准曲线	相关系数(R ²)
乙酸	3.085±0.008	y=781.9x-3.51	0.994 1
丙酸	3.294±0.004	y=1 412.1x+25.59	0.993 4
正丁酸	3.542±0.006	y=1 181.5x-140.04	0.986 5
异丁酸	3.361±0.002	y=1 797.7x+29.45	0.993 7
正戊酸	3.884±0.006	y=1 344.5x-184.66	0.990 4
异戊酸	3.657±0.011	y=1 376.8x-170.09	0.976 1

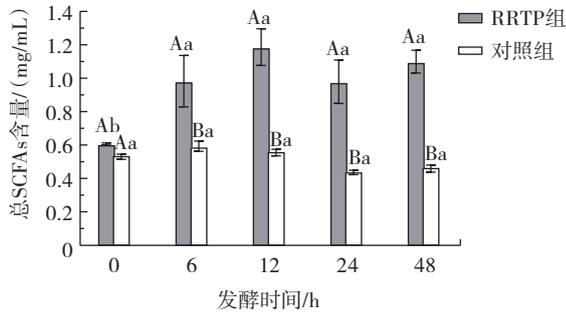
由表 5 可知,各 SCFAs 标准曲线的 R² 值均在 0.9 以上,故所采用的气相色谱法能较为准确地测定出 RRTP 发酵产物中 SCFAs 的含量。

2.5 RRTP 不同厌氧发酵时间的 SCFAs 含量

由表 5 中的标准曲线计算出的 RRTP 组和对照组经厌氧发酵后 SCFAs 的生成量见图 2。其中 RRTP 组

的组成为 40% 结肠发酵培养基+20% 多糖液+40% 粪便液;对照组的组成为 40% 结肠发酵培养基+20% 蒸馏水+40% 粪便液。





不同大写字母表示组间差异显著($P<0.05$);不同小写字母表示组内差异显著($P<0.05$)。

图2 RRTP不同厌氧发酵时间的SCFAs含量变化

Fig.2 Changes of SCFAs content at different time of anaerobic fermentation of RRTP

由图2可知,在发酵开始(0 h)时,RRTP组和对照组中5种SCFAs和总SCFAs含量均无显著变化,发酵6 h时,RRTP组产物中乙酸含量有所升高,至12 h升至最高,之后下降,且在发酵6~48 h,RRTP组的乙酸含量均显著高于对照组($P<0.05$)。RRTP组产物中丙酸含量在发酵0~12 h逐渐升高($P<0.05$),之后趋于平稳,且在发酵6~48 h,RRTP组的丙酸含量也均显著高于对照组($P<0.05$)。发酵48 h时,RRTP组中正丁酸和异戊酸含量高于对照组。从产物中总SCFAs含量来看,从发酵6 h开始,RRTP组总SCFAs含量高于对照组。结果表明,与对照组相比,RRTP经厌氧发酵后产生了乙酸、丙酸、正丁酸、正戊酸和异戊酸,与气相色谱的结果一致,且总SCFAs的含量有所增加。

2.6 RRTP厌氧发酵不同时间SCFAs的相对含量变化

RRTP厌氧发酵不同时间SCFAs的相对含量见表6。

表6 RRTP厌氧发酵不同时间的SCFAs相对含量

Table 6 Relative content of SCFAs at different time of anaerobic fermentation of RRTP

时间/h	各SCFAs的相对含量/%				
	乙酸	丙酸	正丁酸	正戊酸	异戊酸
0	39.46	21.50	21.13	6.63	11.28
6	49.45	29.88	12.81	2.60	5.26
12	44.83	38.75	10.05	2.12	4.25
24	31.78	47.89	12.37	2.51	5.46
48	28.13	46.41	13.96	4.78	6.72

由表6可知,RRTP经厌氧发酵产生的SCFAs中,乙酸、丙酸和正丁酸的相对含量较高;其中乙酸的相对含量随着发酵时间的延长先升高后下降,丙酸的相对含量整体上逐渐升高,而正丁酸的相对含量整体呈下降趋势。

2.7 加标回收率

各SCFAs的加标回收率见表7。

由表7可知,各SCFAs的加标回收率在86%~100%之间,R值均低于2.0%,说明本方法测定SCFAs含量回收率较好,准确度较高。

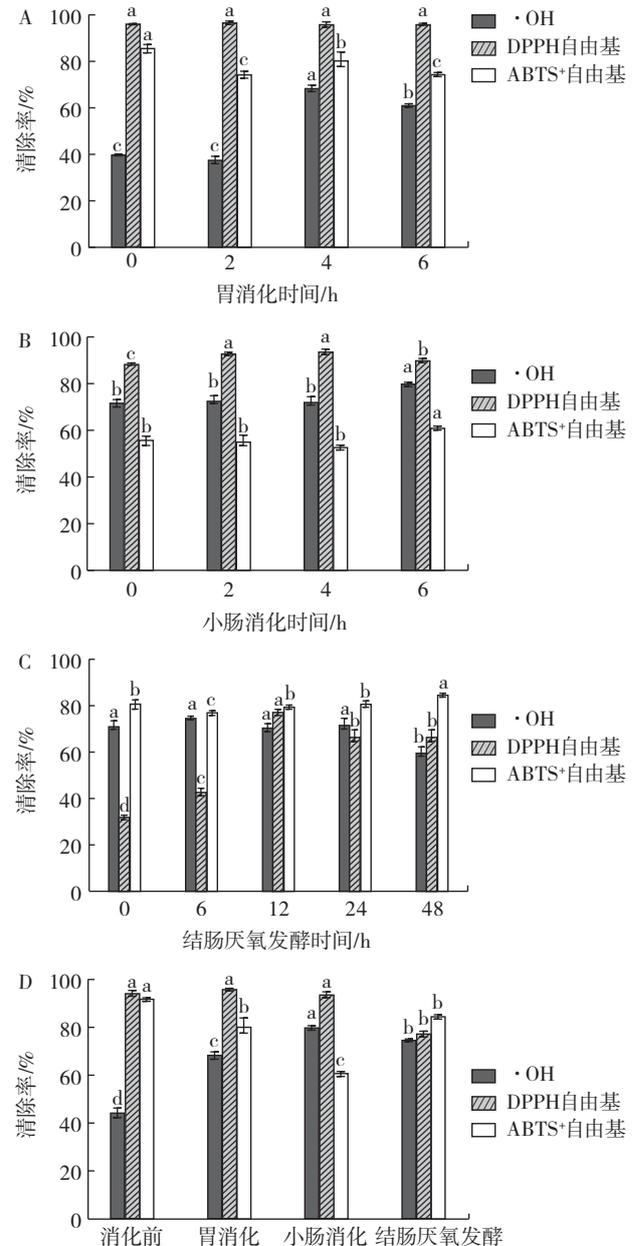
表7 SCFAs的加标回收率

Table 7 Spike recovery of SCFAs

短链脂肪酸	回收率/%	RSD/%	短链脂肪酸	回收率/%	RSD/%
乙酸	89.42	0.61	异丁酸	86.63	1.67
丙酸	91.38	1.89	正戊酸	87.73	1.98
正丁酸	89.44	0.29	异戊酸	99.15	1.85

2.8 RRTP消化产物的抗氧化功能

RRTP经胃、小肠消化和结肠厌氧发酵产物的自由基清除率见图3。



A. 胃消化阶段;B. 小肠消化阶段;C. 结肠厌氧发酵阶段;D. 各消化阶段。同一指标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

图3 不同消化阶段RRTP产物的自由基清除率

Fig.3 Free radical scavenging rate of RRTP digestion products in different digestion stages

由图 3A 可知,RRTP 产物对·OH 清除率影响最明显,消化 4 h 的 RRTP 产物对·OH 清除率显著高于 0 h ($P<0.05$),至 6 h 略有下降,但仍显著高于 0 h ($P<0.05$);由图 3B 可知,RRTP 产物对·OH 和 ABTS⁺自由基的清除率在 0~4 h 无显著变化,至 6 h 时显著高于 0 h ($P<0.05$);由图 3C 可知,RRTP 产物对 DPPH 自由基清除率的影响最明显,呈现先升高又下降的趋势,12 h 最高。由图 3D 可知,与消化前相比,对·OH 的清除率在胃和小肠阶段显著增加 ($P<0.05$),至厌氧发酵阶段有所降低 ($P<0.05$);对 DPPH 自由基的清除率在厌氧发酵阶段显著降低 ($P<0.05$);对 ABTS⁺自由基的清除率在消化前、胃和小肠阶段逐渐下降 ($P<0.05$),但进入厌氧发酵阶段又增高 ($P<0.05$)。

3 讨论

本研究发现,RRTP 在体外模拟胃的消化有限,主要是进入结肠进行发酵分解,符合植物多糖的特征。在体外模拟小肠消化过程中,总糖的含量整体略有下降,原因可能是模拟小肠对 RRTP 进行了一定程度上的消化分解,致使总糖含量发生变化;而还原糖的含量整体上升,这与 Wang 等^[15]报道的 RTFP-3 多糖经胃和小肠消化后还原糖含量显著增加的研究结果一致;也有研究表明,喇叭菌多糖由于糖苷键的破坏可被胃肠液降解成更小的片段^[27],与本研究结果一致。Ding 等^[28]和 Wang 等^[29]研究发现多糖经体外模拟胃液和小肠液消化后,还原糖含量无显著变化;Zhou 等^[30]和 Zhu 等^[31]则发现他们所分离得到的多糖经体外模拟胃肠液消化后,还原糖含量显著增加。以上研究结果表明,多糖在不同消化液中的消化特征可能受多糖来源和种类的影响。

肠道微生物可以通过戊糖途径和己糖途径,将可溶性多糖分解为不同碳链长度的 SCFAs^[32]。SCFAs 是指碳链上碳原子数在 1~6 之间的一类饱和脂肪酸,易挥发,主要是由厌氧细菌或酵母菌发酵产生的,是肠道菌群的分解产物也是其能源物质。乙酸、丙酸和正丁酸是多糖体外厌氧发酵形成的典型 SCFAs。本研究发现,RRTP 经结肠厌氧发酵,产物中检测到了乙酸、丙酸和正丁酸 3 种主要的 SCFAs,还检测到了少量的正戊酸和异戊酸。SCFAs 能调节肠道微生物群,改变肠道微生物生态的多样性,发挥益生元的作用,促进益生菌的增殖,抑制有害细菌的增殖,从而起到调节肠道微生物群的平衡的作用^[33]。故本部分研究结果提示了 RRTP 可能具有一定的益生元作用。

研究结果还发现,RRTP 经体外模拟胃、小肠消化和结肠厌氧发酵后,抗氧化能力会发生改变。在胃消化阶段,RRTP 产物对·OH 的清除率呈现先升高后下降的趋势;在小肠消化阶段,RRTP 产物对·OH 和 ABTS⁺自由基的清除率在 6 h 时升高;在结肠厌氧发酵

阶段,RRTP 产物对 DPPH 自由基的清除率也呈现先升高又下降的趋势。有研究结果显示,多糖在经过模拟胃肠消化后仍然具有清除 DPPH 自由基的能力^[34];还有研究显示,多糖经过体外胃肠液消化后,ABTS⁺自由基清除能力下降了 14%^[35]。综上,本研究结果表明 RRTP 经过体外模拟胃肠道消化后的产物具有较强的抗氧化能力。

4 结论

RRTP 经过体外模拟胃消化,总糖和还原糖含量总体上无变化;经过体外模拟小肠消化,总糖含量下降,还原糖含量上升;经过体外模拟结肠厌氧发酵,总糖和还原糖含量均显著下降,并产生了乙酸、丙酸和正丁酸等 SCFAs,提示 RRTP 在胃内的消化有限,主要在结肠进行厌氧发酵和分解,产生 SCFAs,可能具有一定的益生元功能。

RRTP 在体外模拟胃消化阶段,其产物对·OH 的清除率呈现先升高后下降的趋势;在小肠消化阶段,RRTP 产物对·OH 和 ABTS⁺自由基的清除率在 6 h 时升高;在结肠厌氧发酵阶段,RRTP 产物对 DPPH 自由基的清除率也呈现先升高后下降的趋势。表明 RRTP 的体外消化产物具有较强的抗氧化功能,且抗氧化功能会随着体外消化的进行而发生改变。

参考文献:

- [1] LU M, AN H M, LI L L. Genome survey sequencing for the characterization of the genetic background of *Rosa roxburghii* Tratt and leaf ascorbate metabolism genes[J]. PLoS One, 2016, 11(2): e0147530.
- [2] WANG Y, LI G R, ZHU Y. Research progress of *Rosa roxburghii* food[J]. Food Research & Development, 2019, 40(18): 213-218.
- [3] 赵菲,牛红鑫,佟长青,等. 刺梨加工技术及其加工产品研究进展[J]. 农产品加工, 2017, 16(8): 41-45.
ZHAO Fei, NIU Hongxin, TONG Changqing, et al. Research progress on processing technology and processing products of *Rosa roxburghii* Tratt[J]. Farm Prod. Process, 2017, 16(8): 41-45.
- [4] WU H Y, LI M M, YANG X R, et al. Extraction optimization, physicochemical properties and antioxidant and hypoglycemic activities of polysaccharides from Roxburgh rose (*Rosa roxburghii* Tratt.) leaves[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 165(Pt A): 517-529.
- [5] 田强,李良群,彭梅,等. 刺梨总三萜的免疫活性研究[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2022, 8(6): 11-19.
TIAN Qiang, LI Liangqun, PENG Mei, et al. Immunocompetence of total triterpenoids from *Rosa roxburghii* Tratt. fruit[J]. Journal of Northwest A&F University: Natural Science Edition, 2022, 8(6): 11-19.
- [6] WANG L, LI C, HUANG Q, et al. Polysaccharide from *Rosa roxburghii* Tratt. fruit attenuates hyperglycemia and hyperlipidemia and regulates colon microbiota in diabetic *db/db* mice[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2019, 68(1): 147-159.
- [7] 陈慧,常瑛,刘振国. 刺梨多糖对小鼠黑色素瘤抑制作用实验研究[J]. 陕西医学杂志, 2021, 50(5): 529-533.
CHEN Hui, CHANG Ying, LIU Zhenguo. Experimental study on inhibitory effect of *Rosa roxburghii* polysaccharide on melanoma in mice[J]. Shaanxi Medical Journal, 2021, 50(5): 529-533.

- [8] XU X F, XU P P, MA C, et al. Gut microbiota, host health, and polysaccharides[J]. *Biotechnology Advances*, 2013, 31(2): 318-337.
- [9] CHEN G J, KAN J Q. Characterization of a novel polysaccharide isolated from *Rosa roxburghii* Tratt. fruit and assessment of its antioxidant *in vitro* and *in vivo*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 107: 166-174.
- [10] 杨娟, 杨付梅, 孙黔云. 刺梨多糖的分离纯化及其神经营养活性[J]. *中国药学杂志*, 2006, 41(13): 980-982.
YANG Juan, YANG Fumei, SUN Qianyun. Study on isolation and neurotrophic activity of polysaccharides from *Rosa roxburghii*[J]. *Chinese Pharmaceutical Journal*, 2006, 41(13): 980-982.
- [11] 曹晶晶, 杨卫杰, 曹轶. 刺梨多糖的抗氧化和抗疲劳研究[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2018, 24(4): 474-476, 481.
CAO Jingjing, YANG Weijie, CAO Yi. Anti-fatigue and antioxidant activity of the polysaccharides isolated from *Rosa roxburghii* Tratt. F. *Normalis* Rehd. Et Wils [J]. *Journal of Basic Chinese Medicine*, 2018, 24(4): 474-476, 481.
- [12] 路筏涛, 鲍淑娟. 刺梨多糖对小鼠抗应激功能和免疫功能的影响[J]. *广州中医药大学学报*, 2002, 19(2): 141-142.
LU Xiaotao, BAO Shujuan. Effect of polysaccharides from fructus *Rosae roxburghii* on stress tolerance and immune function[J]. *Journal of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine*, 2002, 19(2): 141-142.
- [13] WANG H Z, LI Y, REN Z H, et al. Optimization of the microwave-assisted enzymatic extraction of *Rosa roxburghii* Tratt. polysaccharides using response surface methodology and its antioxidant and α -D-glucosidase inhibitory activity[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 112: 473-482.
- [14] WANG L, CHEN C, ZHANG B, et al. Structural characterization of a novel acidic polysaccharide from *Rosa roxburghii* Tratt. fruit and its α -glucosidase inhibitory activity[J]. *Food & Function*, 2018, 9(7): 3974-3985.
- [15] WANG L, LI C, HUANG Q, et al. *In vitro* digestibility and prebiotic potential of a novel polysaccharide from *Rosa roxburghii* Tratt. fruit[J]. *Journal of Functional Foods*, 2019, 52: 408-417.
- [16] ZHAN Q Q, ZHONG H, YIN M Y, et al. Optimization of the polysaccharide extraction process from *Rosa roxburghii* Tratt. using Box-Behnken response surface methodology and monosaccharide composition analysis[J]. *Food Science and Technology*, 2022, 42: e86322.
- [17] DING Q, NIE S P, HU J L, et al. *In vitro* and *in vivo* gastrointestinal digestion and fermentation of the polysaccharide from *Ganoderma atrum*[J]. *Food Hydrocolloids*, 2017, 63: 646-655.
- [18] TEDESCHI C, CLEMENT V, ROUVET M, et al. Dissolution tests as a tool for predicting bioaccessibility of nutrients during digestion [J]. *Food Hydrocolloids*, 2009, 23(4): 1228-1235.
- [19] MA Y Y, JIANG S S, ZENG M Y. *In vitro* simulated digestion and fermentation characteristics of polysaccharide from oyster (*Crassostrea gigas*), and its effects on the gut microbiota[J]. *Food Research International*, 2021, 149: 110646.
- [20] ZHANG Y, SU D, HE J Y, et al. Effects of ciceritol from chickpeas on human colonic microflora and the production of short chain fatty acids by *in vitro* fermentation[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2017, 79: 294-299.
- [21] 沈佳琳. 黑果枸杞多糖的提取纯化、抗氧化活性及体外模拟消化和发酵研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2017.
SHEN Jialin. Study on extraction, purification, antioxidant activity, simulated digestion and fermentation *in vitro* of *Lycium barbarum* polysaccharide[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2017.
- [22] WU Y X, XU L S, YIN Z Y, et al. Transcription factor VmSeb1 is required for the growth, development, and virulence in *Valsa Mali* [J]. *Microbial Pathogenesis*, 2018, 123: 132-138.
- [23] 袁敏兰. 猕猴桃皮多酚提取物对高脂膳食所致肠道损伤的影响[D]. 贵阳: 贵州医科大学, 2021.
YUAN Minlan. Effects of kiwifruit peel polyphenols extract on intestinal damage caused by high fat die[D]. Guiyang: Guizhou Medical University, 2021.
- [24] CHEN F, HUANG G L, YANG Z Y, et al. Antioxidant activity of *Momordica charantia* polysaccharide and its derivatives[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 138: 673-680.
- [25] CHEN F, HUANG G L. Antioxidant activity of polysaccharides from different sources of ginseng[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 125: 906-908.
- [26] LI C, HUANG Q, FU X, et al. Characterization, antioxidant and immunomodulatory activities of polysaccharides from *Prunella vulgaris* Linn[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2015, 75: 298-305.
- [27] LIU Y T, DUAN X Y, DUAN S Q, et al. Effects of *in vitro* digestion and fecal fermentation on the stability and metabolic behavior of polysaccharides from *Craterellus cornucopioides*[J]. *Food & Function*, 2020, 11(8): 6899-6910.
- [28] DING Y, YAN Y M, PENG Y J, et al. *In vitro* digestion under simulated saliva, gastric and small intestinal conditions and fermentation by human gut microbiota of polysaccharides from the fruits of *Lycium barbarum*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 125: 751-760.
- [29] WANG Y D, CHEN G J, PENG Y J, et al. Simulated digestion and fermentation *in vitro* with human gut microbiota of polysaccharides from *Coralline pilulifera*[J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2019, 100: 167-174.
- [30] ZHOU W T, YAN Y M, MI J, et al. Simulated digestion and fermentation *in vitro* by human gut microbiota of polysaccharides from bee collected pollen of Chinese wolfberry[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(4): 898-907.
- [31] ZHU K X, YAO S W, ZHANG Y J, et al. Effects of *in vitro* saliva, gastric and intestinal digestion on the chemical properties, antioxidant activity of polysaccharide from *Artocarpus heterophyllus* Lam. (Jackfruit) Pulp[J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 87: 952-959.
- [32] AL-LAHHAM S H, PEPPELENBOSCH M P, ROELOFSEN H, et al. Biological effects of propionic acid in humans; metabolism, potential applications and underlying mechanisms[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2010, 1801(11): 1175-1183.
- [33] WU C, SHAN J F, FENG J C, et al. Effects of dietary *Radix Rehmanniae Preparata* polysaccharides on the digestive enzymes, morphology, microbial communities and mucosal barrier function of the intestine of *Luciobarbus capito*[J]. *Aquaculture Research*, 2020, 51(3): 1026-1037.
- [34] 万刘静, 张利. 柚子皮多糖体外消化抗氧化活性的变化规律[J]. *食品研究与开发*, 2021, 42(11): 82-88.
WAN Liuqing, ZHANG Li. Study on the change in antioxidant activity of polysaccharide from pomelo peel during *in vitro* digestion[J]. *Food Research and Development*, 2021, 42(11): 82-88.
- [35] 屈咪. 胃肠液消化对黑木耳多糖抗氧化活性和免疫活性研究[D]. 上海: 华东理工大学, 2021.
QU Mi. Digestion Effects of gastrointestinal juice on antioxidant activity and immune activity of *Auricularia Auricula-judae* (Bull.) [D]. Shanghai: East China University of Science and Technology, 2021.