

# 模拟胃液条件下苹果多酚对亚硝酸盐的清除作用

李桂星, 胡晓丹, 孙红男, 陶晓赞, 孙爱东\*

(北京林业大学生物科学与技术学院食品科学系, 北京 100083)

**摘 要:** 在模拟人体胃液的条件下, 以亚硝酸盐清除率为指标, 比较苹果多酚、茶多酚及 VC 对亚硝酸盐的清除效果, 同时研究苹果多酚不同作用时间对亚硝酸盐清除效果的影响。结果表明: 在模拟胃液条件下: 苹果多酚、茶多酚及 VC 均能不同程度地清除亚硝酸盐, 且在低质量分数下, 清除率随质量分数增加呈对数曲线上升, 增加到一定质量分数后清除率变化不大; 在低质量分数(0.01%~0.02%)下, 苹果多酚的清除率略低于茶多酚, 质量分数 $\geq 0.03\%$  时, 苹果多酚的清除率要高于茶多酚; 苹果多酚的清除能力最高可达 $(98.2 \pm 1.3)\%$ , 而茶多酚 $(94.7 \pm 0.2)\%$ , VC 为 $(88.6 \pm 1.0)\%$ ; 苹果多酚和茶多酚复配使用的清除效果明显优于单独使用, 清除率可达 $(92.6 \pm 0.3)\%$ ; 苹果多酚和 VC 复配使用的清除效果优于单独使用, 清除率可达 $(65.7 \pm 0.3)\%$ ; 苹果多酚、茶多酚及 VC 复配使用时的清除率可达 $(90.7 \pm 0.3)\%$ , 比苹果多酚和茶多酚混合使用的效果差, 但优于苹果多酚和 VC 的复配效果; 苹果多酚对亚硝酸盐的清除率随作用时间延长而上升, 当作用时间达到 2h 时清除率最高, 可达 $(98.7 \pm 0.2)\%$ , 时间继续延长, 清除率有下降趋势。因此, 苹果多酚作为一种天然提取物, 在胃酸条件下对亚硝酸盐具有良好的清除作用。

**关键词:** 亚硝酸盐; 苹果多酚; 茶多酚; VC; 清除率

## Clearance Effect of Apple Polyphenols on Nitrite in Mimic Gastric Juice

LI Gui-xing, HU Xiao-dan, SUN Hong-nan, TAO Xiao-yun, SUN Ai-dong\*

(Department of Food Science and Engineering, College of Biology Science and Technology,  
Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

**Abstract:** In mimic gastric juice, the clearance rates of apple polyphenols, tea polyphenols and vitamin C on nitrite were compared to explore the effect of apple polyphenols on the clearance of nitrite. The results showed that apple polyphenols, tea polyphenols and vitamin C could scavenge nitrite to different extents. The clearance rate of nitrite by apple polyphenols exhibited a logarithmic increase with increasing concentration over the low concentration range. Despite tea polyphenols having a slightly higher scavenging effect at low concentration (0.01%—0.02%), the scavenging effect of apple polyphenols against nitrite was stronger when the concentration was greater than or equal to 0.03%. The maximum nitrite scavenging rates of apple polyphenols, tea polyphenols and vitamin C were  $(98.2 \pm 1.3)\%$ ,  $(94.7 \pm 0.2)\%$  and  $(88.6 \pm 1.0)\%$ , respectively. The nitrite scavenging effect of mixed apple polyphenols and tea polyphenols, resulting in a scavenging rate of  $(92.6 \pm 0.3)\%$  was better than that of either of them alone; similarly, apple polyphenols plus vitamin C also exhibited a higher scavenging rate, which was up to  $(65.7 \pm 0.3)\%$ . The scavenging rate of apple polyphenols plus tea polyphenols plus vitamin C was  $(90.7 \pm 0.3)\%$ , which was slightly lower than that of mixed apple polyphenols and tea polyphenols but higher than that of apple polyphenols plus vitamin C. The scavenging effect of apple polyphenols reached its maximum level  $(98.7 \pm 0.2)\%$  after 2 h of incubation. Therefore, apple polyphenols as a natural extract has excellent clearance effect on nitrite in mimic gastric juice.

收稿日期: 2010-09-26

基金项目: “十一五” 国家科技支撑计划项目(2006BAD05A13)

作者简介: 李桂星(1987—), 男, 硕士研究生, 主要从事苹果多酚提取及生物活性研究。E-mail: liguixingok@sina.com

\* 通信作者: 孙爱东(1968—), 女, 教授, 博士, 主要从事天然产物生理活性物质的开发与利用研究。

E-mail: adsun68@163.com

**Key words:** nitrite; apple polyphenols; tea polyphenols; vitamin C; clearance effect

中图分类号: Q946.8; TS255.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)11-0001-04

苹果是一种深受大众喜爱的水果,含有丰富的植物纤维、糖、矿物质、苹果酸、维生素、蛋白质和多酚类物质。苹果多酚是苹果中天然存在的一类重要生物活性物质,具有抗氧化性、抗衰老以及抗癌等重要的生理功能,可以作为食品添加剂使用和用于保健食品的开发<sup>[1-3]</sup>,具有较大的应用前景。

*N*-亚硝基化合物是一种致癌性很强的化合物<sup>[4]</sup>,已研究的近300种*N*-亚硝基化合物中,约90%以上具有动物致癌性,并证明*N*-亚硝基化合物可在体内外由其前体物胺类与硝酸盐或亚硝酸盐形成<sup>[5]</sup>。在体内代谢过程中,特别是在胃液中容易形成亚硝胺<sup>[6]</sup>。因此降低胃内的亚硝酸盐含量,即可减少或阻断亚硝基化合物的体内合成<sup>[7]</sup>。

有研究表明,茶多酚<sup>[8-9]</sup>和VC<sup>[10]</sup>对亚硝酸盐具有明显的清除能力,但在体外模拟胃液条件下苹果多酚对亚硝酸盐的清除作用以及与茶多酚、VC协同作用对亚硝酸盐清除能力比较的实验研究尚属空白。本实验对此方面进行研究,以便为苹果多酚的功效利用提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

茶多酚(含量高于98%)、苹果多酚(含量高于80%) 西安小草植物科技有限责任公司。

抗坏血酸(AR) 北京奥博星生物技术有限责任公司;柠檬酸钠(AR) 北京化工厂。

0.4g/100mL 对氨基苯磺酸:称取0.4g对氨基苯磺酸(AR)溶于100mL 20%盐酸中,混匀,避光保存。

0.2g/100mL 盐酸萘乙二胺:称取0.2g盐酸萘乙二胺(AR)溶于100mL的蒸馏水中,混匀,避光保存。

NaNO<sub>2</sub>标准溶液:称取0.1000g于硅胶干燥器中干燥24h的NaNO<sub>2</sub>(AR),加水溶解,定容至250mL,即得NaNO<sub>2</sub>储备液(质量浓度为400μg/mL),取储备液2.5mL稀释至100mL,即得NaNO<sub>2</sub>应用液(质量浓度为10μg/mL)。

### 1.2 仪器与设备

752型紫外可见分光光度计 上海光谱仪器有限公司;JA2003电子分析天平 上海精密科学仪器有限公司;XMTB数显恒温水浴锅 天津市中环实验电炉有限公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 梯度溶液配制<sup>[8]</sup>

将苹果多酚、茶多酚、VC分别配制成质量分数为:0.01%、0.02%、0.03%、0.06%、0.10%、0.15%、0.20%的溶液(现用现配),备用。

#### 1.3.2 单因素试验

将苹果多酚、茶多酚、VC分别按照配置好的梯度溶液进行亚硝酸盐的清除实验。

#### 1.3.3 苹果多酚、茶多酚、VC的复配实验<sup>[11]</sup>

将苹果多酚的质量分数固定为0.01%,首先按照苹果多酚和茶多酚的质量分数比为1:1、1:2、2:1进行复配,再按照苹果多酚和VC的质量分数比为1:1、1:2、2:1进行复配,然后按照苹果多酚、茶多酚、VC的质量分数比为1:1:1、1:2:2、2:1:1进行复配,在模拟胃液条件下进行亚硝酸盐的清除实验。

#### 1.3.4 作用时间对苹果多酚清除亚硝酸盐的影响

取质量分数为0.02%的苹果多酚溶液,分别在模拟胃液条件下(配置pH3的柠檬酸钠盐缓冲液,在水浴中保持37℃恒温)与亚硝酸盐作用0.5、1、2、3、4h,并进行亚硝酸盐的清除实验。

#### 1.3.5 亚硝酸钠清除率的测定

##### 1.3.5.1 测定原理<sup>[12]</sup>

当加入清除剂时,清除剂与NaNO<sub>2</sub>作用将NaNO<sub>2</sub>消耗掉,剩余亚硝酸根在酸性条件下,能使对氨基苯磺酸重氮化,再使其与盐酸萘乙二胺偶合生成偶联化合物,测定溶液吸光度,计算亚硝酸盐清除率。

##### 1.3.5.2 体外模拟胃液(pH3)条件下对NO<sub>2</sub><sup>-</sup>的清除反应<sup>[13]</sup>

将0.5mol/L的柠檬酸钠-盐酸缓冲液(pH3.0)5.0mL置于50mL容量瓶中,取1.3.1节各溶液5mL依次加入盛有缓冲液容量瓶中,各剂量均做3份平行样本管,再分别加入5mL10μg/mL的NaNO<sub>2</sub>溶液,在37℃恒温水浴中反应30min,同时各做3份NaNO<sub>2</sub>标准管和清除剂本底管,取出后立即加入2mL 0.4%对氨基苯磺酸溶液,混匀,静置5min后加入1mL 0.2%盐酸萘乙二胺溶液,加水至刻度,混匀,静置15min,用2cm的比色杯于538nm波长处测定吸光值,用式(1)计算清除率。

$$\text{清除率}/\% = \frac{A_0 - (A_x - A_{x_i})}{A_0} \times 100 \quad (1)$$

式中: $A_0$ 为未加清除剂的标准管吸光度; $A_x$ 为加入不同质量分数清除剂的反应液吸光度; $A_{x_i}$ 为加入不同质量分数清除剂本底的吸光度。

### 1.3.6 数据统计分析

实验数据用平均值 $\pm$ 标准差表示( $n=3$ ), 采用SPSS17.0统计软件对组间及组内数据进行 $t$ 检验,  $P<0.05$ 表示差异显著,  $P<0.01$ 表示差异极显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 体外模拟胃液(pH3)条件下对 $\text{NO}_2^-$ 清除反应的单因素试验

#### 2.1.1 苹果多酚质量分数对 $\text{NO}_2^-$ 清除率的影响

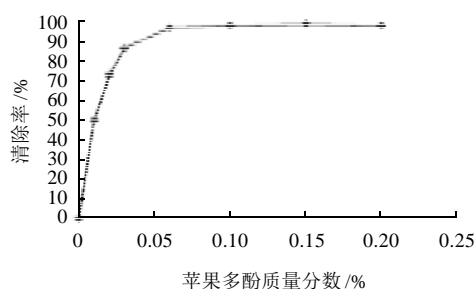


图1 苹果多酚质量分数对 $\text{NO}_2^-$ 清除率的影响  
Fig.1 Nitrite scavenging rates of apple polyphenols at different concentrations

如图1所示, 苹果多酚质量分数较低时与清除率间呈显著的量效关系, 清除率随苹果多酚质量分数增加呈对数关系上升, 当质量分数增至0.06%, 对 $\text{NO}_2^-$ 的清除率可达 $(96.3 \pm 0.6)\%$ , 以后随苹果多酚质量分数增加的程度逐渐变小, 趋于饱和, 最高可达 $(98.2 \pm 1.3)\%$ , 实验表明苹果多酚可有效地清除亚硝酸盐。

#### 2.1.2 茶多酚对 $\text{NO}_2^-$ 清除率的影响

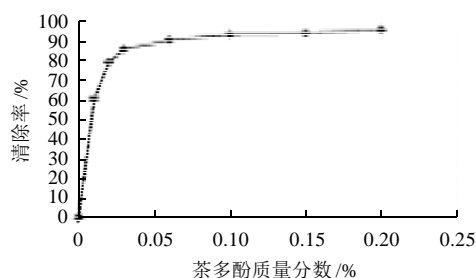


图2 茶多酚质量分数对 $\text{NO}_2^-$ 清除率的影响  
Fig.2 Nitrite scavenging rates of tea polyphenols at different concentrations

表1 苹果多酚、茶多酚及VC质量分数对亚硝酸盐清除率的影响

添加剂	质量分数/%						
	0.01	0.02	0.03	0.06	0.10	0.15	0.20
苹果多酚	$49.5 \pm 1.9^A$	$72.4 \pm 1.6^A$	$85.9 \pm 0.9^A$	$96.3 \pm 0.6^A$	$97.3 \pm 0.3^A$	$98.2 \pm 1.3^A$	$97.3 \pm 1.0^A$
茶多酚	$59.6 \pm 1.0^B$	$78.3 \pm 0.4^B$	$84.9 \pm 0.7^A$	$89.5 \pm 0.3^B$	$92.3 \pm 0.4^B$	$93 \pm 0.7^B$	$94.7 \pm 0.2^A$
VC	$25.2 \pm 0.2^C$	$42.8 \pm 0.8^C$	$52.1 \pm 0.2^B$	$72.5 \pm 0.3^C$	$81.2 \pm 1.6^C$	$87 \pm 0^C$	$88.6 \pm 1.0^B$

注: 同列字母不同, 表示差异极显著( $P<0.01$ )。

如图2所示, 茶多酚质量分数较低时与清除率间呈显著的量效关系, 清除率随茶多酚质量分数增加呈对数关系上升, 当质量分数增至0.10%,  $\text{NO}_2^-$ 的清除率可达 $(92.3 \pm 0.4)\%$ , 以后随茶多酚质量分数增加的程度逐渐变小, 趋于饱和, 最高可达 $(94.7 \pm 0.2)\%$ , 表明茶多酚也能有效地清除亚硝酸盐。

#### 2.1.3 VC质量分数对 $\text{NO}_2^-$ 清除率的影响

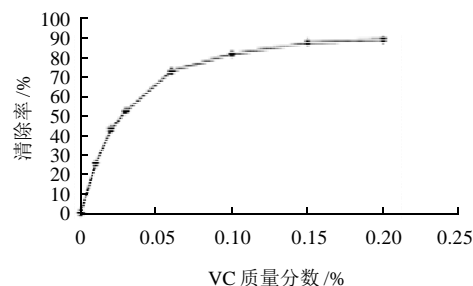


图3 VC质量分数对 $\text{NO}_2^-$ 清除率的影响  
Fig.3 Nitrite scavenging rates of VC at different concentrations

如图3所示, VC质量分数在0.06%以下时, 清除率随质量分数增加迅速升高, 与所报道VC在低质量质量分数下就能有效清除 $\text{NO}_2^-$ 结果一致<sup>[14]</sup>, 以后随VC质量分数的增加, 清除率升高的趋势渐趋平缓, 质量分数在0.2%时清除率最高, 达到 $(88.6 \pm 1.0)\%$ , 但相同质量分数条件下的清除率都明显低于苹果多酚和茶多酚。

#### 2.1.4 苹果多酚、茶多酚、VC对 $\text{NO}_2^-$ 清除率的显著性差异分析

将单因素试验的清除率做显著性差异分析, 观察苹果多酚、茶多酚、VC对 $\text{NO}_2^-$ 的清除效果进行比较, 如表1所示。

由表1可以看出, 当三者质量分数在0.01%~0.02%时, 清除率差异呈极显著, 清除率大小依次为: 茶多酚>苹果多酚>VC, 当添加质量分数为0.03%时, 苹果多酚的清除率超过茶多酚, 但差异不显著, VC的清除率显著低于苹果多酚和茶多酚; 当添加质量分数大于等于0.06%时, 三者的清除率差异均为极显著, 清除率大小依次为: 苹果多酚>茶多酚>VC, 由此可见, 当质量分数大于等于0.03%时, 苹果多酚对 $\text{NO}_2^-$ 的清除效果比茶多酚和VC好。

## 2.2 苹果多酚、茶多酚及 VC 的复配实验

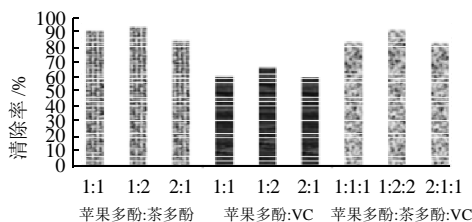


图4 苹果多酚、茶多酚及 VC 的复配清除效果

Fig.4 Nitrite scavenging rates of mixtures of apple polyphenols and tea polyphenols, VC or both of them at different mixing ratios

对比图4与表1,当固定苹果多酚的质量分数为0.01%,然后与其他添加剂按一定质量分数比例复配时,苹果多酚与茶多酚复配后清除效果明显高于两者在相同质量分数下单独使用,苹果多酚(0.01%)与茶多酚(0.02%)在质量分数比为1:2时对亚硝酸盐的清除率可达(92.6 ± 0.3)%;苹果多酚与VC复配使用的清除作用也优于两者单独使用,但比苹果多酚与茶多酚复配的效果差,苹果多酚(0.01%)与VC(0.02%)质量分数比为1:2时对亚硝酸盐的清除率为(65.7 ± 0.3)%;苹果多酚、茶多酚及VC三者同时复配使用的清除效果均优于单独使用,其复配比例为1:2:2时的清除效果最好,可达(90.7 ± 0.3)%,比苹果多酚与茶多酚复配使用的清除效果略低,优于苹果多酚与VC复配使用的清除效果。

## 2.3 不同作用时间下苹果多酚对亚硝酸盐的清除作用

取质量分数为0.02%的苹果多酚,在模拟胃液条件下处理不同时间,结果如表2所示。当处理时间从0.5h延长至1h时,清除率有明显的上升,时间延长至2h时清除率升至(98.7 ± 0.2)%,继续延长处理时间,清除率不再上升,反而略有下降,说明在一定时间内苹果多酚对亚硝酸盐的清除效果与处理时间呈正相关,超出一定时间范围清除率不再继续上升,甚至会有下降的趋势。

表2 不同作用时间下苹果多酚对亚硝酸盐的清除作用

Table 2 Nitrite scavenging rates of apple polyphenols at different time points of action

时间/h	0.5	1	2	3	4
清除率/%	72.4 ± 1.6	92.7 ± 0.3	98.7 ± 0.2	97.9 ± 0.1	97.8 ± 0.3

## 3 结论与讨论

本实验在模拟胃液环境下围绕苹果多酚对NO<sub>2</sub><sup>-</sup>清除作用进行了研究,结果表明其具有良好的清除效果。

从单因素试验结果看,苹果多酚对NO<sub>2</sub><sup>-</sup>的清除效果明显要比VC好,且质量分数在大于0.03%时清除效果优于茶多酚,说明苹果多酚中含有的酚类物质所具有的抗氧化活性<sup>[15]</sup>同样具有清除亚硝酸盐的能力,同时也与相关报道<sup>[16]</sup>中苹果多酚比茶多酚具有更强的抗氧化性一致。

苹果多酚与茶多酚及VC复配使用的清除效果均优于三者相同质量分数下单独使用,其中苹果多酚

(0.01%)与茶多酚(0.02%)复配其清除率可达(92.6 ± 0.3)%,说明苹果多酚与茶多酚在清除亚硝酸盐作用中有较好的协同作用,其清除效果比苹果多酚与VC复配使用和三者同时复配使用都好,苹果多酚(0.01%)与VC(0.02%)复配的清除率可达(65.7 ± 0.3)%,清除效果要优于相同质量分数下单独使用,三者同时使用的清除率可达(90.7 ± 0.3)%,清除效果低于苹果多酚与茶多酚的复配效果,说明加入的VC会影响苹果多酚与茶多酚对亚硝酸盐清除的协同作用。

在模拟人体胃液条件下,不同的处理时间也会影响苹果多酚对亚硝酸盐的清除率,清除率在0.5~2h范围内有明显提高,作用时间为2h时清除率最高为(98.7 ± 0.2)%,时间超过2h后清除率不再上升,甚至出现略微的下降趋势。

苹果多酚作为一种天然提取物,能够在胃酸条件下对亚硝酸盐具有良好的清除作用,说明它具有良好的耐酸性,进而提示我们苹果多酚对人体健康的潜在保健功能,可以作为功能成分直接应用于食品加工中。

## 参考文献:

- [1] 曲恩超,魏富祥. 苹果多酚的研究进展[J]. 河北化工, 2006(1): 5-8.
- [2] YINRONG L, YEAP F L. Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace[J]. Food Chem, 2000, 68: 81-85.
- [3] YANGAIDA A, KANDA T, TANABE M, et al. Inhibitory effects of apple polyphenols and related compounds on cariogenic factors of mutans streptococci[J]. J Agric Food Chem, 2000, 48(11): 5666-5671.
- [4] 徐国平. 蔬菜、水果对N-亚硝基化合物致癌的预防作用[J]. 国外医学: 卫生学分册, 1989(2): 93-94.
- [5] 许后效. 环境中的N-亚硝基化合物[M]. 北京: 科学出版社, 1988: 59-65.
- [6] YANG Lei, CHEN zhonglin, SHEN jimin, et al. Reinvestigation of the nitrosamine-formation mechanism during ozonation[J]. Envi Sci Tech, 2009, 43(14): 5481-5487.
- [7] 褚衍信, 冯华进. 亚硝酸根清除剂体外研究的新方法及其应用[J]. 癌症, 1994, 13(5): 470-471.
- [8] 周才琼, 陈玉山, 李干红, 等. 茶及茶多酚对NO<sub>2</sub><sup>-</sup>清除作用的体外试验研究[J]. 西南农业大学学报, 2003, 25(1): 59-61.
- [9] LEE S C, KIM S Y, JEONG S M, et al. Effect of far-infrared irradiation on catechins and nitrite scavenging activity of green tea[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(2): 399-403.
- [10] 庞杰, 石雁. 抗坏血酸对酱菜亚硝酸盐含量的影响[J]. 中国果菜, 2000(5): 27-29.
- [11] 张镜源, 廖惠珍, 朱萍萍. 模拟胃液条件下探讨绿茶对亚硝酸盐的清除规律[J]. 中国公共卫生学报, 1998, 17(1): 22-24.
- [12] 冯翠萍, 洪建华, 张弋凡. 果汁对亚硝酸盐清除作用的研究[J]. 山西农业大学学报, 2009, 29(3): 262-264.
- [13] 周文斌. 泡菜中亚硝酸盐测定方法研究[J]. 食品科学, 2006, 27(2): 242-244.
- [14] 薛丽, 蓝红英. VC对降低香肠亚硝酸钠残留量的研究[J]. 食品科技, 2006(6): 65-67.
- [15] ALOSO J M, BLANCO D. High-performance liquid chromatography of the neutral phenolic compound of low molecular weight in apple juice[J]. J Agric Food Chem, 1994, 42: 2732-2736.
- [16] 唐传核, 彭志英. 苹果多酚的开发及应用[J]. 中国食品添加剂, 2001(2): 41-45.