

体外模拟消化过程中余甘子果实及醇提物的活性成分和抗氧化能力的变化

吴娜, 朱宇琛, 章旭, 董方钰, 刘姣, 陈芳, 邓泽元, 潘瑶

Changes in Active Ingredients and Antioxidant Capacity of *Phyllanthus emblica* Linn and Its Ethanol Extract *in Vitro* Simulated Digestion

WU Na, ZHU Beichen, ZHANG Xu, DONG Fangyu, LIU Jiao, CHEN Fang, DENG Zeyuan, and PAN Yao

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023020233>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

采用Box-Behnken设计优化玫瑰花酵素发酵工艺及其抗氧化活性的测定

Fermentation Technology Optimization of Rose Flower Enzyme Using Box-Behnken Design and Its Antioxidant Activity Determination

食品工业科技. 2021, 42(13): 193-201 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020090304>

菊花不同提取物代谢组学分析及其抗氧化活性功效物质成分筛选

Metabonomics Analysis of Different Extracts from *Chrysanthemum morifolium* and Screening of Its Antioxidant Active Components

食品工业科技. 2021, 42(16): 8-19 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021010248>

余甘子总多酚的提取及其抗氧化活性研究

Extraction and Antioxidant Activity of Polyphenols from *Phyllanthus emblica* L.

食品工业科技. 2019, 40(16): 151-155,162 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.16.025>

干燥温度对醇提余甘子多酚含量及其抗氧化活性的影响

Effect of Drying Temperature on Phenolic Contents and Its Antioxidant Activity of *Phyllanthus emblica* L.

食品工业科技. 2019, 40(24): 57-61 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.24.010>

模拟胃肠道消化过程中迷迭香提取物总酚及抗氧化活性变化

Changes in Total Polyphenols and Antioxidant Activity in Rosemary Extract during Simulated Gastrointestinal Digestion

食品工业科技. 2019, 40(17): 294-298 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.17.048>

香茶子叶片总酚、总黄酮提取及抗氧化性研究

Extraction of total phenolics and flavonoids from the leaf of *Ribes odoratum* Wendl. and its antioxidant activity

食品工业科技. 2017(02): 266-272 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.02.043>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

吴娜, 朱孛琛, 章旭, 等. 体外模拟消化过程中余甘子果实及醇提物的活性成分和抗氧化能力的变化 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(24): 349–358. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023020233

WU Na, ZHU Beichen, ZHANG Xu, et al. Changes in Active Ingredients and Antioxidant Capacity of *Phyllanthus emblica* Linn and Its Ethanol Extract *in Vitro* Simulated Digestion[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(24): 349–358. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023020233

· 营养与保健 ·

体外模拟消化过程中余甘子果实及醇提物的活性成分和抗氧化能力的变化

吴 娜¹, 朱孛琛¹, 章 旭¹, 董方钰¹, 刘 姣¹, 陈 芳¹, 邓泽元², 潘 瑶^{1,*}

(1.南昌大学公共卫生学院, 江西南昌 330000;

2.南昌大学食品科学与资源挖掘全国重点实验室, 江西南昌 330000)

摘 要:为探究余甘子冻干粉及其乙醇提取物在体外消化(口腔、胃、小肠和大肠)过程中的差异, 本研究对余甘子的主要成分进行了鉴定, 然后比较了两者的消化前后的总酚和总黄酮含量以及抗氧化能力。结果表明, 余甘子富含多酚和黄酮类物质, 其中, 冻干粉结合型多酚含量更高, 而醇提物游离型多酚含量更高。体外模拟消化前, 冻干粉的总酚和总黄酮的含量分别为 5.40 ± 0.07 mg GAE/mL 和 1.48 ± 0.15 mg RT/mL, 醇提物的总酚和总黄酮含量分别为 3.65 ± 0.05 mg GAE/mL 和 14.80 ± 0.74 mg RT/mL。和消化前相比, 在消化过程中, 两者的总酚含量均显著降低 ($P < 0.05$), 但两者的总黄酮含量在口腔消化液中升高。此外, 消化前的余甘子醇提物对 ABTS⁺、DPPH 自由基的清除能力和 Fe³⁺还原能力都显著低于冻干粉 ($P < 0.05$), 但消化后余甘子醇提物的抗氧化能力显著增强 ($P < 0.05$)。对总酚、总黄酮含量与抗氧化能力的相关性分析表明, 总酚含量与抗氧化能力之间存在显著的正相关性 ($P < 0.05$)。综上, 消化后余甘子果实冻干粉及醇提物的活性成分和抗氧化能力发生明显的变化, 且和余甘子冻干粉相比, 醇提物的抗氧化能力更强。表明经提取及消化处理加工后的余甘子产品可能会有更高的抗氧化健康效益。

关键词:余甘子, 高效液相色谱串联四极杆飞行时间质谱, 体外消化, 总酚, 总黄酮, 抗氧化能力

中图分类号: TS201.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2023)24-0349-10

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023020233



本文网刊:

Changes in Active Ingredients and Antioxidant Capacity of *Phyllanthus emblica* Linn and Its Ethanol Extract *in Vitro* Simulated Digestion

WU Na¹, ZHU Beichen¹, ZHANG Xu¹, DONG Fangyu¹, LIU Jiao¹, CHEN Fang¹, DENG Zeyuan², PAN Yao^{1,*}

(1.School of Public Health, Nanchang University, Nanchang 330000, China;

2.State Key Laboratory of Food Science and Resources, Nanchang University, Nanchang 330000, China)

Abstract: To compare the differences between lyophilized powder (LP) and ethanol extract (EE) of *Phyllanthus emblica* Linn. (PE) *in vitro* digestion (oral cavity, gastric area, small intestine, and large intestine), this study identified the main components of PE and then compared total phenolic acids (TPA), total flavonoids (TFA) and antioxidant capacity before and after digestion. Results showed that both LP and EE of PE were rich in polyphenols and flavonoids. LP contained higher bound polyphenols than EE, while EE contained higher free polyphenols than LP. Before digestion, TPA and TFA of the LP were 5.40 ± 0.07 mg GAE/mL and 1.48 ± 0.15 mg RT/mL, respectively. While the TPA and TFA of the EE were

收稿日期: 2023-02-23

基金项目: 江西省自然科学基金青年基金(20224BAB216089); 江西省卫生健康委员会科技项目(SKJP220219080); 江西省高等学校创新创业项目(S202210403015)。

作者简介: 吴娜(1996-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 营养与食品卫生学, E-mail: 2289146190@qq.com。

* 通信作者: 潘瑶(1993-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 营养与食品卫生学, E-mail: ncuskpanyao@163.com。

3.65±0.05 mg GAE/mL and 14.80±0.74 mg RT/mL, respectively. After digestion, TPA of the LP and EE was significantly lower than before ($P<0.05$). However, the TFA was higher than before after digestion in oral cavity. Before digestion, the EE showed significantly lower scavenging capacities on ABTS⁺, DPPH radicals, and Fe³⁺ reduction than the LP. However, after digestion, the antioxidant ability of the EE was significantly higher than LP ($P<0.05$). Correlation analysis of the TPA and TFA with antioxidant capacity showed a significant positive correlation ($P<0.05$). In conclusion, after digestion *in vitro*, the active ingredients and antioxidant capacity of the LP and EE of PE changed significantly. The EE had stronger antioxidant capacity compared with the LP. It is suggesting that PE products after extraction treatment may have higher health benefits.

Key words: *Phyllanthus emblica* Linn; HPLC-QTOF-MS/MS; digestion *in vitro*; total phenols; total flavonoids; antioxidant activity

余甘子(*Phyllanthus emblica* Linn), 也称滇橄榄、庵摩勒(古代名)或印度醋栗等^[1-2], 在我国南部地区分布广泛^[3], 其根、叶、果实均可入药, 是世界多个国家及民族传统药理学体系中的重要药物^[4]。在我国, 《本草纲目》称其“久服轻身, 延年益寿”, 现已载入《中国药典》^[5]。我国《“十四五”国民健康规划》提出“食药同源”等健康产业进入快速发展期, 相关健康产业将成为中国经济发展的新引擎和新动力。然而, 作为一种“食药同源”的作物, 少有研究将余甘子作为日常膳食中的水果来源, 从食品角度探究其健康效应及其影响因素, 也少有研究探索其经消化道消化后, 其健康效应的差异。现代研究表明, 余甘子富含多酚、黄酮类、氨基酸、维生素^[6]等成分, 具有抗氧化^[7]、抗衰老^[8]、抗炎^[9]、抗肿瘤^[10]等多种健康效应。国内外大量研究证实, 余甘子所富含的多酚和黄酮类植物化学物具备较强的抗氧化能力, 这是其表现健康效应的关键因素^[11-12]。

多酚和黄酮类物质是植物次生代谢产物的主要成分, 也是膳食抗氧化剂重要成分^[13]。水果、蔬菜中的植物化学物具有安全、无毒、高效、易得等特点, 可以清除体内过多的自由基, 使之保持在正常的生理范围内^[14]。膳食多酚类化合物容易与其他组分(如蛋白质、糖类等)结合形成衍生物, 可以按其结合程度^[15]将膳食多酚分为游离型多酚和结合型多酚。研究认为, 容易被溶剂(如水、甲醇、乙醇等)提取出来的多酚为游离型多酚, 而溶剂提取之后的残渣中存在的主要是结合型多酚。结合型多酚容易与细胞壁中的脂蛋白以及纤维素等紧密结合, 很难被提取出来。研究发现富含食物基质的植物化学物相较于提取物对细胞及动物体内抗氧化指标表现出显著差异^[16]。此外, 研究表明, 多酚类物质在被吸收前, 会在胃肠道发生结构的改变或降解^[17], 且其抗氧化能力在消化前后也有显著差异^[18]。目前关于余甘子多酚、黄酮抗氧化能力的研究, 多停留在其果汁或提取物的游离型多酚的体外抗氧化能力上, 如杨冰鑫等^[19]利用乙醇对余甘子多酚进行提取, 并通过体外实验证实提取物具有很强的抗氧化能力; 赵谋明等^[20]和李张伟等^[21]也得出了相似的结论。然而, 我国现有研究一方面未系统地分析鉴定余甘子中的多酚和黄酮类物质, 不能

为阐述余甘子健康效益提供理论基础; 另一方面国内外的研究缺乏考虑消化过程对余甘子多酚和黄酮类物质的影响, 不具有膳食指导价值; 此外, 尚未有基于“全食品”概念^[22], 全面研究比较全食物基质为代表的余甘子果实冻干粉和以提取物为代表的余甘子醇提物在消化过程中的差异。因此, 未能进一步挖掘余甘子作为“食药同源”果实的经济价值和社会效益, 将很大程度上制约余甘子营养价值提升与功能食品的研发。

通过人体实验或动物实验来探究余甘子中多酚类物质在人体消化过程中的含量变化存在诸多困难, 而体外模拟消化具有操作简单、易行、实验条件易于控制、实验周期较短的优点, 成为研究食物在人体胃肠道消化中变化的重要途径^[23]。因此, 本文以余甘子冻干粉和醇提物作为研究对象, 利用高效液相色谱串联四极杆飞行时间质谱(High Performance Liquid Chromatography Quadrupole Time of Flight Mass Spectrometry, HPLC-QTOF-MS/MS)对余甘子醇提物和冻干粉主要进行分析鉴定, 通过体外模拟消化模型探讨在各阶段(口腔、胃、小肠和大肠)的消化液中多酚与黄酮含量以及抗氧化活性的变化情况, 比较余甘子醇提物和冻干粉在上述阶段多酚与黄酮含量和抗氧化活性的差异。该研究有望为余甘子的加工利用、营养价值提升和相关功能食品的研发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

余甘子果实 产自江西赣州, 为新鲜无损果实; α -淀粉酶(酶活力 ≥ 1500 U/mL)、胃蛋白酶(酶活力 ≥ 25000 U/mL)、胰蛋白酶(酶活力 ≥ 800 U/mL)、纤维素酶(酶活力 ≥ 1000 U/mL)、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、水溶性维生素 E (Trolox)、氯化钾、磷酸二氢钾、氯化钠、碳酸氢钠、氯化镁、碳酸铵、氢氧化钠 均为分析纯, 上海 Aladdin 公司; 2,2'-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonate, ABTS)试剂盒 碧云天生物技术研究; 无水乙醇、盐酸 均为分析纯, 中国上海 Apel 公司。

JY-86-2-50 型-80 ℃ 冰箱 青岛海尔电冰柜有

限公司;FA1604 电子分析天平 美国奥豪斯贸易公司;EXL800 全波段酶标仪 美国伯腾仪器有限公司;KL-UP-III-10 超纯水制备机 台湾艾柯(成都)实验专业纯水设备厂;RE-3000A 旋转蒸发仪 上海越众仪器有限公司;LGJ-12A 真空冷冻干燥机 北京四环仪器有限公司;Agilent6540 超高解析度四级杆-飞行时间质谱仪(Q-TOF) 安捷伦科技(中国)有限公司;TDL-5-A 离心机 上海安亭科技仪器。

1.2 实验方法

1.2.1 样品制备

1.2.1.1 余甘子冻干粉的制备 挑选新鲜无损余干果,用超纯水洗净,去核,切成 1 cm×1 cm×1 cm 的方块;置于真空冷冻干燥机中进行冷冻干燥。冻干后的样品经粉碎后过 80 目筛 3 次,得到余甘子果实冻干粉,冻干粉于-80 ℃ 冰箱储存备用。

1.2.1.2 余甘子醇提物的制备 参照本团队前期方法^[24] 优化改良,按照料液比 1:30(mg/mL)向上述得到的余甘子冻干粉中加入 70% 的乙醇,再使用超声细胞破碎仪对其进行超声提取,其中超声功率(200 W),超声温度(60 ℃),超声时间(30 min)。超声后离心(8000 r/min, 10 min),弃残渣取上清液,使用旋转蒸发仪除去乙醇并浓缩,浓缩后的样品置于真空冷冻干燥机中进行冷冻干燥,得到余甘子醇提物,醇提物于-80 ℃ 冰箱储存备用。

1.2.2 余甘子果实成分分析鉴定 参照 Yang 等^[25] 的方法,稍作修改,使用 HPLC-QTOF-MS/MS 对余甘子果实的基本成分进行分析鉴定。修改的实验条件如下:

液相色谱条件:采用 C₁₈ 色谱柱(1.8 μm, 3 mm×100 mm)。流动相由纯乙腈 A,含 0.1% 甲酸的水溶液 B 组成。冻干粉的洗脱梯度为:0~1 min, 2% A; 1~8 min, 2%~4% A; 8~15 min, 4%~5% A; 15~23 min, 5%~15% A; 23~28 min, 15%~30% A; 28~32 min, 30%~35%A; 32~37 min, 35%~50% A; 37~38 min, 50%~2% A; 38~39 min, 2% A。醇提物的洗脱梯度为 0~8 min, 5% A; 8~16 min, 5%~15% A; 16~18 min, 15%~35% A; 18~28 min, 50%~100% A; 28~35 min, 100% A; 35~45 min, 100%~0% A; 45~54 min, 0% A。后运行 1 min 以重新平衡色谱柱。进样量 2 μL,流速为 0.3 mL/min,柱温 30 ℃。

质谱条件:电喷雾离子源(ESI),负离子模式。数据获取和分析软件为 Qualitative Analysis 10.0。

1.2.3 体外模拟消化液的制备 参考胡琪睿^[26] 的方法进行体外消化,首先按表 1 配制各阶段工作液。模拟体外消化工作液均用蒸馏水定容至 500 mL。配制 1 mol/L 的氢氧化钠溶液或 6 mol/L 盐酸溶液,将 pH 分别调节至 3 和 7,于 4 ℃ 冰箱保存备用。

模拟口腔消化:1 g 余甘子原料冻干粉和等余甘子量(本实验的提取率为 50%,即 1 g 冻干粉可以提

表 1 模拟工作液的配制
Table 1 Configuration of simulated working fluid

成分	添加量(mL)		
	模拟口腔消化工作液	模拟胃消化工作液	模拟小肠消化工作液
氯化钾(0.5 mol/L)	15.1	6.9	6.8
磷酸二氢钾(0.5 mol/L)	3.7	0.9	0.8
碳酸氢钠(1 mol/L)	6.8	12.5	42.5
氯化钠(2 mol/L)	—	11.8	9.6
氯化镁(0.15 mol/L)	0.5	0.4	1.1
碳酸铵(0.5 mol/L)	0.06	0.5	—

取出 0.5 g 提取物,则称 0.5 g 提取物为等余甘子量)的提取物于 10 mL 的离心管中,分别加入 4 mL 80% 乙醇复溶,摇匀,使其充分混合,得到余甘子冻干粉及醇提物溶液。随后,向离心管中依次加入 3.5 mL 的口腔模拟工作液、0.5 mL 的 α-淀粉酶(1500 U/mL)和 25 μL 氯化钙溶液(0.3 mol/L),蒸馏水定容至 10 mL,混匀后置于恒温水浴摇床中,在 31 ℃ 避光振荡 5 min;结束后取上清液 S1 置于 4 ℃ 冰箱储存,进行相关测定,保留残渣进行下一步。

模拟胃消化:上一消化阶段结束后,向其消化残渣中加入 1.6 mL 胃蛋白酶(25000 U/mL)、7.5 mL 的胃模拟工作液以及 5 μL 氯化钙溶液(0.3 mol/L)。调节 pH 至 3 后,蒸馏水定容至 20 mL。混匀后置于恒温水浴摇床内,37 ℃ 避光振荡 2 h,取上清液 S2 进行相关测定,置于 4 ℃ 冰箱储存,保留残渣进行下一步。

模拟小肠消化:上一消化阶段结束后,向胃消化残渣中加入 5 mL 胰蛋白酶(800 U/mL)、11 mL 小肠消化工作液、40 μL 氯化钙溶液(0.3 mol/L)和 2.5 mL 猪胆盐溶液(160 mmol/L),调整 pH 至 7.0 后,蒸馏水定容至 40 mL。混匀后,置于恒温水浴摇床,37 ℃ 避光振荡 2 h,取上清液 S3 进行相关测定,置于 4 ℃ 冰箱储存,保留残渣进行下一步。

模拟大肠消化:上一消化阶段结束后,向其消化残渣中继续加入 20 mL 蒸馏水,用 HCl(6 mol/L)调节 pH 至 4.0 后,加入 80 μL 纤维素酶,置于恒温水浴摇床,37 ℃ 避光振荡 16 h(过夜)后,使用离心机离心(8000 r/min, 10 min),取上清液 S 进行相关测定,置于 4 ℃ 冰箱储存。

1.2.4 总酚含量的测定 总酚标准曲线绘制:参考王若兰等^[27] 的实验方法,使用福林酚法对样品中的总酚含量进行测定。通过测定不同浓度梯度下没食子酸标准品(0.001、0.003、0.0075、0.0125、0.0175 和 0.02 mg/mL)的吸光度,绘制标准曲线。得到的标准曲线方程为 y=15.49x+0.0565, R²=0.9987。

提取液中总酚含量的测定:按照上述总酚的检测方法,检测待测样品中的总酚含量,根据标准曲线计算样品中总多酚的没食子酸当量,总酚含量用 mg GAE(没食子酸当量)/g 表示,计算公式如下:

$$\text{总酚含量(mg GAE/g)} = \frac{AV}{m} \quad \text{式 (1)}$$

式中: A 为没食子酸浓度(mg/mL); V 为测定后体积(mL); m 为样品质量(g)。

1.2.5 总黄酮含量的测定 总黄酮标准曲线的绘制: 采用氯化铝-亚硝酸钠比色法测定。向 300 μL 不同浓度梯度的芦丁标准溶液(0.005、0.01、0.02、0.04 和 0.06 mg/mL)中加入 40 μL 的 25% NaNO_2 , 反应 6 min 后加入 40 μL 10% 的 $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 反应 6 min 后加入 500 μL (1 mol/L) NaOH 和 1.12 mL 的 80% 乙醇, 于波长 510 nm 处测定吸光值。根据不同浓度梯度的芦丁标准溶液对应的吸光度绘制标准曲线, 得到的标准曲线方程为 $y=1.1265x+0.0555$, $R^2=0.9958$ 。

提取液中总黄酮含量的测定: 按上述总黄酮的检测方法, 测定待测样品中总黄酮的含量。总黄酮量以芦丁当量计算, 单位为 mg RT/g。

1.2.6 DPPH 自由基清除能力测定 参考李文婷等^[28]的实验方法, 稍作修改。配制不同浓度的 Trolox 标准溶液(10、50、100、200、300、400 和 500 $\mu\text{mol/L}$), 向 96 孔板中加入 100 μL 的 DPPH 乙醇溶液(0.065 mmol/L)与 20 μL 的 Trolox 标准溶液, 充分混匀, 室温避光反应 30 min 后, 使用全波段酶标仪于 517 nm 测定其吸光度。以 Trolox 标准溶液的浓度及对应的 DPPH 自由基清除率绘制标准曲线。得到的标准曲线方程为 $y=213.8x-0.1029$, $R^2=0.9932$ 。

按照上述方法检测待测样品的 DPPH 自由基清除率, 以 Trolox 为参考标准, 结果表示为 μmol 维生素 E 当量(TE)/g。清除 DPPH 自由基能力用以下公式计算:

$$\text{清除率(\%)} = \left(1 - \frac{A_i - A_j}{A_0}\right) \times 100 \quad \text{式 (2)}$$

式中: A_i 为样品溶液加 DPPH 试剂混合液的吸光度, A_j 为样品溶液加乙醇的光度, A_0 为 DPPH 溶液加样品溶剂的吸光度。

1.2.7 ABTS⁺自由基清除能力测定 参考李文婷等^[28]的实验方法。以不同浓度 Trolox 溶液(25、50、100、200、300、400 和 500 $\mu\text{mol/L}$)及其相应的清除率绘制标准曲线, 得到的标准曲线为 $y=144.89x+0.0207$, $R^2=0.9993$ 。样品溶液的 ABTS⁺自由基清除能力以维生素 E 为参考标准, 结果表示为 $\mu\text{mol TE/g}$ 。ABTS⁺自由基清除率计算用以下公式计算:

$$\text{清除率(\%)} = \left(1 - \frac{A_n - A_m}{A_i}\right) \times 100 \quad \text{式 (3)}$$

式中: A_n 为样品溶液加 ABTS 溶液的吸光度; A_m 为样品溶液加 80% 乙醇的吸光度; A_i 为 ABTS 溶液加样品溶剂的吸光度。

1.2.8 铁离子还原能力测定 参考李文婷等^[28]的实验方法, 稍作修改。向 1.6 mL 冰乙酸中加入 0.31 g

醋酸钠, 加入少量超纯水定容至 100 mL, 配制成试剂 A; 向 0.0312 g 的 TPTZ 中加入 400 mmol/L 的盐酸定容至 10 mL, 配制成试剂 B; 向 0.0541 g 六水合氯化铁中加入超纯水定容至 10 mL, 得到试剂 C; 按照 A:B:C=10:1:1 的比例配制工作液。取 1.8 mL 上述工作液置于 2 mL 的 EP 管中, 加入不同体积的样品(见表 2)使工作液变色, 再加入少量超纯水定容至 2 mL, 暗反应 30 min 于波长 593 nm 测定吸光度。根据不同浓度的 Trolox 标准溶液对应的吸光度绘制标准曲线, 得到的标准曲线方程为 $y=85.547x+0.2094$, $R^2=0.9921$ 。样品溶液的铁离子还原能力以维生素 E 为参考标准, 结果表示为 $\mu\text{mol TE/g}$ 。

表 2 FRAP 模型中加入样品的体积
Table 2 Sample volume added on the FRAP model

样品名称	加入体积(μL)
冻干粉	30
冻干粉口腔消化液	3
冻干粉胃消化液	3
冻干粉小肠消化液	10
冻干粉大肠消化液	10
醇提物	20
提取物口腔消化液	30
提取物胃消化液	50
提取物小肠消化液	50
提取物大肠消化液	150

1.3 数据处理

所有实验采用 6 组平行, 所得数据以平均值 $\pm$ 标准差表示, 用 SPSS 17.0 软件进行统计分析, 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。通过单因素方差分析(ANOVA)进行显著性分析, $P < 0.05$ 为差异显著, 并使用 Pearson 法对多酚和黄酮含量与抗氧化能力进行相关性分析。使用 GraphPad Prism 8 进行绘图。

2 结果与分析

2.1 余甘子果实成分分析

使用 HPLC-QTOF-MS/MS 对余甘子冻干粉和醇提物样品的成分进行分析鉴定。得到的负离子模式下的一级总离子流图谱分别为图 1 和图 2。通过将母离子质荷比和特征碎片的离子信息与文献进行比对, 结果见表 3 和表 4。余甘子冻干粉共鉴定出 40 种成分, 醇提物共鉴定出 29 种成分, 由鉴定出的结果可知, 余甘子富含鞣质、酚酸类、黄酮类及萜烯醇类等多酚和黄酮类物质。

由图 1 和表 3 可知, 余甘子冻干粉中既包括游离态的多酚, 如没食子酸(峰 10)、山奈酚(峰 18)、鞣花酸(峰 31)等; 也包括结合态多酚, 如粘酸衍生物(峰 3、5、8)、槲皮素衍生物(峰 37)等。根据相应的峰面积可知, 冻干粉中的结合型酚酸的含量略高于游离型。由图 2 和表 4 可以看出, 余甘子醇提物中的多酚主要为游离态多酚(峰 3、6、22、26), 结合型多酚较少, 可能是由于结合型多酚很难被溶剂提取出

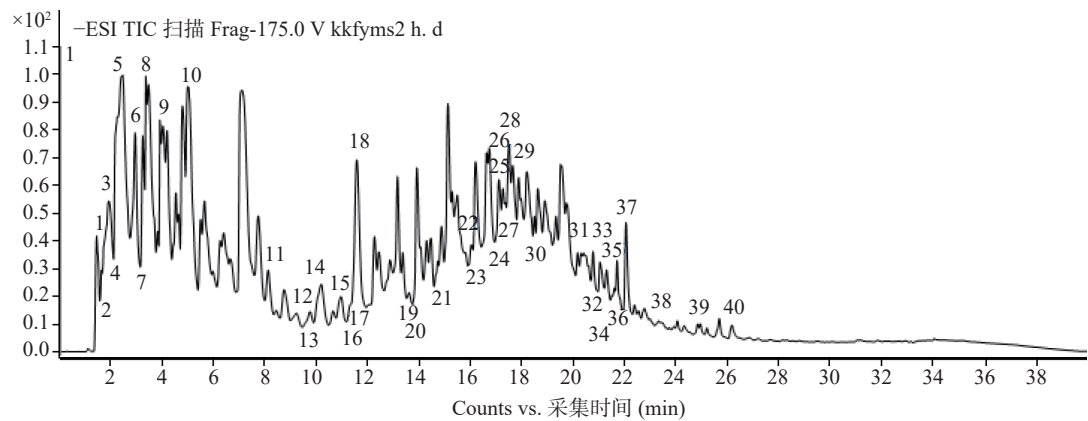


图 1 负离子模式下余甘子冻干粉样品的总离子流图

Fig.1 Primary total ion current spectrum of PE lyophilized powder sample in negative ion mode

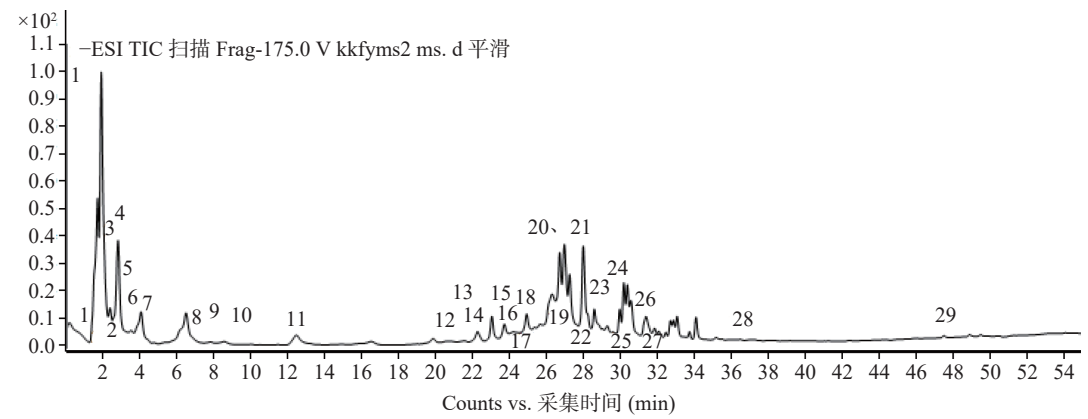


图 2 负离子模式下余甘子醇提物样品的总离子流图

Fig.2 Primary total ion current spectrum of PE ethanol extracts sample in negative ion mode

表 3 HPLC-QTOF-MS/MS 鉴定出的余甘子冻干粉样品中的化学成分

Table 3 Compounds determined by HPLC-QTOF-MS/MS of PE lyophilized powder sample

峰序号	保留时间(min)	推测化合物	母离子(m/z)	特征碎片	峰面积(%)
1	1.623	粘酸	209.0315	191	—
2	1.64	苹果酸	133.0147	133	—
3	1.724	mucic acid lactone	191.0217	—	6.23%
4	1.759	肉桂酸	147.0305	103	—
5	2.145	mucic acid gallate	361.0437	209/191	7.88%
6	2.918	诃子次酸	355.0322	337	1.37%
7	3.220	mucic acid digallate	513.0539	361/209	0.67%
8	3.372	mucic acid lactonegallate	343.0335	191	2.12%
9	3.894	galloyl hexoside	331.0697	331/169	2.98%
10	4.751	没食子酸	169.0165	169/125	5.82%
11	8.08	quercetin deoxyhexose	447.0781	271	0.45%
12	9.492	neochebuloyl galloylglucose	669.0954	337	0.13%
13	9.66	没食子儿茶素	305.0672	305/179	0.12%
14	9.962	mucic acid lactonedigallate	495.0422	343/191	0.88%
15	10.854	digalloylglucose	483.0793	169	0.34%
16	11.224	山奈素	299.0412	299	—
17	11.459	芦丁	609.1321	609	—
18	11.576	山奈酚	285.0270	133	2.54%
19	13.56	chebuloyl neochebuloylgalloylglucose	989.1118	337	0.10%
20	13.78	galloyl-HHDP-glucose	633.0743	463/301	—
21	14.889	mallonin	807.091	—	0.16%
22	15.714	新诃黎勒酸	971.1005	953/301	2.77%
23	16.151	putranjivain A	1083.1194	467/301	2.51%
24	16.992	trigalloylglucose	635.0888	331	—
25	17.06	诃子宁	651.0853	—	—

续表 3

峰序号	保留时间(min)	推测化合物	母离子(m/z)	特征碎片	峰面积(%)
26	17.144	诃黎勒酸	953.0901	—	2.10%
27	17.38	elaecarpusin	1109.0958	301	1.90%
28	17.514	老鹤草素	951.0777	301	2.33%
29	17.766	ellagic acid hexose	463.0517	301	2.37%
30	18.456	quercetin pentoside	433.0410	—	0.88%
31	20.34	鞣花酸	300.9989	301	2.25%
32	20.728	异槲皮苷	463.0881	463/301	0.01%
33	20.98	trigalloyl-HHDP-glucose	937.0957	301	1.03%
34	21.098	digalloyl-HHDP-glucose	785.0841	633	0.95%
35	21.586	mallotusin	917.0689	458	0.16%
36	21.670	异鼠李素 3-O-葡萄糖苷	491.0829	—	0.16%
37	22.039	槲皮素-3-鼠李糖苷	447.0957	447/301/300	1.34%
38	23.401	山奈酚-7-O-鼠李糖苷	431.0991	431/285	—
39	24.796	methyluteolin hexoside	461.1100	461	0.10%
40	26.158	槲皮素	301.0363	301/151	0.22%

表 4 HPLC-QTOF-MS/MS 鉴定出的余甘子醇提取物样品中的化学成分

Table 4 Compounds determined by HPLC-QTOF-MS/MS of PE ethanol extracts sample.

峰序号	保留时间(min)	推测化合物	母离子(m/z)	特征碎片	峰面积(%)
1	1.604	粘酸	209.0294	191	—
2	1.836	mucic acid gallate	361.0398	209/191	8.89%
3	2.416	诃子次酸	355.0290	337	15.47%
4	2.859	galloyl hexoside	331.0656	—	7.82%
5	3.461	mucic acid lactone gallate	343.0286	191	0.82%
6	3.926	没食子酸	169.0129	125	2.89%
7	4.739	槲皮素	301.0547	257/179	—
8	7.525	mucic acid dimethylester gallate	389.0703	169	0.20%
9	8.106	没食子儿茶素	305.0643	125/219/305/179	—
10	9.963	luteolin hexoside	447.0748	285/199/133	—
11	12.287	山奈酚	285.0226	133/217/241	1.34%
12	21.343	表没食子儿茶素	305.0636	219/305/125	—
13	21.575	1-O,6-O-Digalloyl-β-D-glucose	483.0744	169/271/331/211	—
14	22.040	mallonin	807.0832	463/301	1.31%
15	23.899	quercetin glucuronide	479.0885	301	1.79%
16	24.015	新诃黎勒酸	971.0914	935/953/301/463	1.67%
17	24.945	putranjivain A	1083.1092	301/541/467	3.09%
18	25.177	诃黎勒酸	953.0797	301	0.95%
19	26.687	galloyl-HHDP-glucose	633.0701	463/301	5.76%
20	26.919	老鹤草素	951.0695	301	5.79%
21	27.151	槲皮素 3-O-葡萄糖苷	463.0490	301/463	3.02%
22	27.964	elaecarpusin	1109.0898	463/301/554	4.81%
23	28.545	digalloyl-HHDP-glucose	785.0797	301	1.36%
24	30.171	鞣花酸	300.9964	173/229/301	1.88%
25	30.287	槲皮素-3-鼠李糖苷	447.0549	300/301/447	2.06%
26	31.216	异槲皮苷	463.0859	271/179	1.30%
27	31.565	tetragalloylglucose	787.0907	483/301	0.30%
28	36.560	山奈酚-7-O-鼠李糖苷	431.0953	285/284/227/255	—
29	47.474	p-coumaroylquinic acid	337.0882	119	—

注: 英文成分表示尚未有中文名称的化学成分。

来。总之,余甘子冻干粉中的结合型多酚要高于醇提取物。

研究表明,结合态多酚可以被体内的消化酶和肠道微生物进一步分解利用,将其释放出来,从而提高健康效益^[29],但是目前关于余甘子多酚的研究多停留在提取物的游离多酚的相关研究上,余甘子全水果

的多酚含量和抗氧化能力或许被低估。因此,对比余甘子冻干粉和醇提取物及两者消化前后的总酚总黄酮含量及其抗氧化能力的变化对更充分地利用余甘子的健康效益具有重要意义。

2.2 总酚和总黄酮含量

余甘子冻干粉和醇提取物在体外模拟胃肠消化过

程中的多酚和黄酮含量变化如表 5 所示。由表 5 中可知,消化前样品中的多酚含量最高,且冻干粉显著高于醇提物($P<0.05$),这可能是由于醇提物仅提取出了游离型多酚,在提取过程中损失了结合型多酚。体外模拟消化过程中,两者的总酚含量均在口腔最高,大肠最低,这和王贵一等^[30]的研究结论是一致的。口腔消化后,多酚含量显著降低,可能是因为酚类化合物直接和 α -淀粉酶结合产生大分子聚合物,从而降低酚类化合物的含量^[31]。但是在胃和小肠中,冻干粉胃的多酚含量要高于小肠,这可能是由于溶于溶剂的多酚多为游离酚,胃消化液的强酸环境和胃蛋白酶的存在可使残渣中的部分结合酚释放,但是肠液的碱性环境可能导致胃部释放的结合酚向其他物质转变,从而使小肠消化后的总酚含量低于胃消化液中的含量^[17]。而醇提物小肠的多酚含量高于胃,这可能是由于和冻干粉醇溶液相比,醇提物的残渣在提取过程中被舍弃,缺少结合酚的释放,而小肠内的胆汁和胰酶可以增加多酚的释放^[32],故胃消化液中的总酚含量低于小肠消化液中的含量。虽然在体外模拟消化过程中,余甘子冻干粉和醇提物多酚含量的变化趋势不一致,但在同一消化阶段,两者之间多酚的含量并无显著性差异。

表 5 余甘子各样品中总酚和总黄酮含量
Table 5 Total phenols and total flavonoids in each sample of PE.

样品名称	总酚含量 (mg GAE/g)	总黄酮含量 (mg RT/g)
冻干粉	5.40±0.07 ^d	1.48±0.15 ^b
冻干粉口腔消化液	2.32±0.05 ^b	24.00±0.65 ^e
冻干粉胃消化液	1.86±0.04 ^b	12.30±0.23 ^c
冻干粉小肠消化液	1.58±0.08 ^b	21.10±0.37 ^d
冻干粉大肠消化液	0.14±0.02 ^a	3.00±0.09 ^b
醇提物	3.65±0.05 ^{bc}	14.80±0.74 ^c
提取物口腔消化液	2.88±0.09 ^b	40.00±1.23 ^{de}
提取物胃消化液	1.23±0.03 ^b	9.02±0.08 ^c
提取物小肠消化液	2.25±0.21 ^b	2.15±0.06 ^b
提取物大肠消化液	0.05±0.00 ^a	0.32±0.02 ^a

注:小写字母表示不同样品间的成分含量在 $P<0.05$ 水平上存在显著性差异。

对于消化前的样品来说,冻干粉中的黄酮含量要显著低于醇提物的含量($P<0.05$),可能是醇提物采用的是超声辅助提取,提取时间较长,温度较高^[33],且黄酮多为非极性类物质,经过超声空化效应可以促进总黄酮类物质的释放^[34]。在整个体外模拟消化过程中,冻干粉的黄酮含量变化趋势为口腔>小肠>胃>大肠,醇提物的黄酮含量变化趋势为口腔>胃>小肠>大肠,这和两个样品消化过程中多酚含量的变化趋势不一致。胃消化液中,冻干粉中的黄酮含量要高于醇提物中的含量,可能是由于冻干粉的残渣中的结合型黄酮在胃酸和胃蛋白酶的作用下被分解释放^[35]。而小肠中的胆汁和胰酶进一步促进结合型黄酮的释放,因

此,冻干粉小肠中的黄酮含量要高于胃中的含量^[36]。但是对于醇提物而言,其结合型黄酮较少,而黄酮类物质在弱碱性环境下不稳定,容易被降解,故其在小肠消化液中的黄酮含量要低于胃,这和陈等^[37]的研究结果是一致的。

总之,由于余甘子冻干粉和醇提物中结合型、游离型多酚和黄酮含量的差异,以及体外模拟消化环境中的 pH 和酶的种类的不同,导致两者在消化各阶段酚类物质的结合、释放、降解也有所不同,即两者在消化各阶段的总酚含量和总黄酮含量存在差异。因此,研究继续探索余甘子冻干粉和醇提物在消化前后抗氧化能力的变化是有必要的。

2.3 模拟体外消化过程中抗氧化能力分析

2.3.1 DPPH 自由基清除能力 根据标准曲线计算得出的不同样品的 DPPH 自由基清除率如图 3 所示。由图 3 可以看出,消化前,余甘子冻干粉的 DPPH 自由基清除能力显著高于醇提物($P<0.05$),可能是由于冻干粉的多酚含量更高。但体外模拟消化后,余甘子醇提物的 DPPH 自由基清除能力更强,可能是由于在酚酸类物质中,含有三个邻位酚羟基的化合物 DPPH 自由基清除能力明显强于其他化合物^[38],本实验中醇提物的成分主要为游离型多酚如没食子酸(3,4,5-三羟基苯甲酸),其抗氧化能力远强于结合酚。在整个体外消化过程中,两者的 DPPH 自由基清除能力的变化趋势是一致的,均为消化前>小肠>胃>口腔>大肠。但是两者的 DPPH 自由基清除能力与总酚含量的变化趋势存在差异,尤其是在口腔和胃。胃的总酚含量高,但 DPPH 自由基清除能力不一定强,这可能是因为强酸对该分析体系影响较大,可降低多酚对 DPPH 自由基的清除能力^[39]。

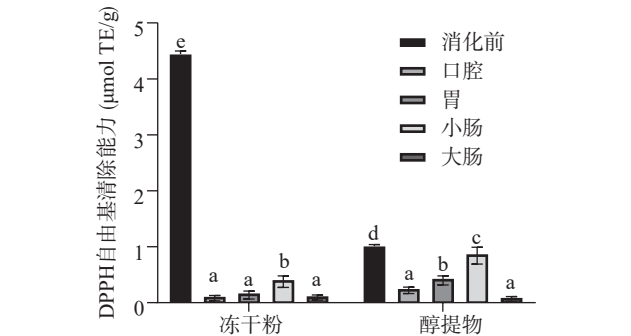


图 3 DPPH 法测定体外消化过程中余甘子的抗氧化能力
Fig.3 Antioxidant activity determined by DPPH assays of PE in vitro digestion

注:小写字母表示不同样品间的抗氧化能力在 $P<0.05$ 水平上存在显著性差异;图 4~图 5 同。

2.3.2 ABTS⁺自由基清除能力 根据标准曲线计算得出的不同样品的 ABTS⁺自由基清除率如图 4 所示。从图 4 可以看出,消化前,余甘子冻干粉的 ABTS⁺自由基清除能力显著高于醇提物($P<0.05$)。消化后,两者的 ABTS⁺自由基清除能力均显著降低($P<0.05$),但其变化趋势存在差异,除了口腔,其余消

化阶段的 ABTS⁺自由基清除能力和总酚含量的变化趋势基本一致。其中,冻干粉在胃和小肠的 ABTS⁺自由基清除能力较高,可能由于酸解和碱解均可显著提高结合酚的 ABTS⁺自由基清除能力,且碱解(小肠)>酸解(胃)^[28]。醇提物的 ABTS⁺自由基清除能力在不同消化阶段没有显著性差异,但其变化趋势和总酚含量基本一致。消化后,冻干粉各阶段的 ABTS⁺自由基清除能力均低于醇提物,可能是由于冻干粉各阶段的总酚含量均低于醇提物。

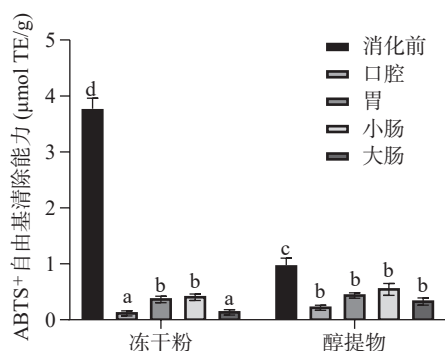


图4 ABTS法测定余甘子体外消化过程中的抗氧化能力
Fig.4 Antioxidant activity determined by ABTS assays of PE in vitro digestion

2.3.3 Fe³⁺还原能力 根据标准曲线计算得出的不同样品的 Fe³⁺还原能力如图5所示。从图5中可以看出,不管是消化前还是消化后,冻干粉的 Fe³⁺的还原能力基本显著高于醇提物($P<0.05$)。和消化前相比,经体外消化后,两者的 Fe³⁺的还原能力均显著降低($P<0.05$),且除了冻干粉的口腔消化液,其余的 Fe³⁺的还原能力均与总酚含量的变化趋势基本一致。即总酚含量越高,Fe³⁺的还原能力越强。

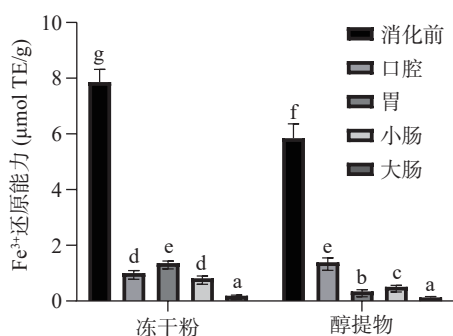


图5 FRAP法测定体外消化过程中余甘子的抗氧化能力
Fig.5 Antioxidant activity determined by FRAP assays of PE in vitro digestion

在以上三个抗氧化体系中,和消化前相比,消化后的抗氧化能力均显著降低。但消化后,在 DPPH 和 ABTS 体系中,余甘子醇提物的抗氧化能力要高于冻干粉,但在 FRAP 体系中,冻干粉的抗氧化能力较高,这可能是不同的抗氧化体系的原理不同导致的^[31]。总体上,抗氧化能力和总酚含量的变化趋势基本一致,但在冻干粉的口腔消化液中,虽有较高的多酚含量,其在三个体系的抗氧化能力均较低,这和李

滨旭^[40]的研究结果相似,可能是因为冻干粉的结合型多酚未经提取,口腔消化后,细胞壁尚未被破坏,导致多酚和黄酮难以被释放出来,因此,抗氧化能力较弱。

2.4 总酚总黄酮含量与抗氧化能力之间的相关性

相关性分析是指对两个或多个具备相关性的变量元素进行分析,从而衡量两个变量因素的相关密切程度,相关系数的绝对值越大,表明因子之间的相关性越大。图6为余甘子冻干粉和醇提物样品总酚总黄酮的含量与抗氧化能力之间的关系,颜色越深,表明相关系数越大。从图6中可以看出,总酚含量和 DPPH 自由基清除能力、ABTS⁺自由基清除能力以及 Fe³⁺还原能力之间均呈现正相关,且相关性极显著($P<0.01$),这和张灿等^[41]的研究结果是一致的。总黄酮含量与抗氧化能力之间为负相关,但在 $\alpha=0.05$ 水平上相关性不显著。可能是因为黄酮类化合物是多酚的一种,消化过程中,黄酮含量在某些消化阶段增加,但相应阶段的多酚含量减少,抗氧化能力变弱,因此呈现出黄酮含量与抗氧化能力之间的负相关。

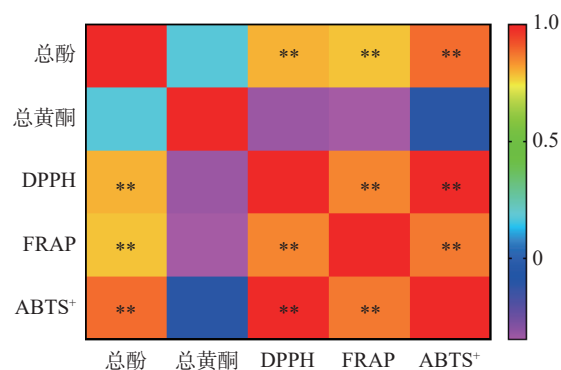


图6 总酚和总黄酮的含量与抗氧化能力的相关性分析
Fig.6 Correlation analysis of the content of total phenols and total flavonoids with antioxidant capacity
注: **表示在 $P<0.01$ 水平上相关性显著。

总之,经过相关性分析可知,余甘子果实的抗氧化能力与其多酚类物质的含量呈现出显著的正相关。结合上述体外消化模型,模拟余甘子功能性成分和抗氧化能力在消化过程中的变化过程,可发现,通过适当的提取加工能够提高余甘子产品中游离型多酚的含量,有助于提升其抗氧化健康效益,从而为余甘子产品的开发提供理论基础,更好地发挥余甘子相关产品的健康价值。

3 结论

本研究通过体外模拟消化法对余甘子冻干粉和醇提物的活性成分及抗氧化能力进行了探究。结果发现,余甘子果实富含多酚和黄酮类物质,其中,冻干粉不仅富含游离型多酚,还富含结合型多酚,而醇提物的成分主要为游离型多酚。体外模拟消化前,冻干粉和醇提物的总酚含量分别为 5.40 ± 0.07 mg GAE/mL 和 3.65 ± 0.05 mg GAE/mL。总黄酮含量分别为 1.48 ± 0.15 mg RT/mL 和 14.80 ± 0.74 mg RT/mL。和消化

前相比,在消化过程中,两者的总酚含量均显著降低($P<0.05$),但两者总黄酮的含量在口腔消化液中最高。消化酶和 pH 可能是消化过程中影响总酚总黄酮含量的主要因素,强酸和消化酶可以促进结合型多酚的分解释放,而碱性环境又会导致结合酚向其他物质转变。结果还发现,消化前,余甘子醇提物对 ABTS⁺、DPPH 自由基的清除能力和 Fe³⁺还原能力都显著低于冻干粉($P<0.05$),但消化后余甘子醇提物的抗氧化能力强于冻干粉。可能是由于醇提物中游离型多酚的抗氧化能力更强。最后,研究对总酚总黄酮含量与抗氧化能力的相关性分析表明,总酚含量与抗氧化能力之间存在显著的正相关性。综上,消化后,和余甘子冻干粉相比,醇提物的抗氧化能力更强。作为“食药同源”的食品的开发应用,经过适当的提取加工可使得余甘子产品可能会有更高的健康效益。

本研究基于体外消化模型,创新性地比较余甘子冻干粉与提物经体外口腔-胃肠道消化后的差异,旨在探究余甘子在此过程中活性成分和抗氧化能力的变化规律。本项目可将研究成果更好地应用于功能性食品开发;满足健康产业发展需求,为余甘子食品产品的设计提供新思路和新方法,为切实推动我国食品营养健康发展、落实《“健康中国 2030”规划纲要》、促进国民营养健康需求提供科学依据。

参考文献

- [1] 王建超,陈志峰,郭林榕.我国余甘子种质资源生态分布区域综述[J].东南园艺,2020,8(2):57-60. [WANG Jianchao, CHEN Zhifeng, GUO Linrong. Summary on ecological distribution of *Phyllanthus Emblica* germplasm resources in china[J]. Southeast Horticulture, 2020, 8(2): 57-60.]
- [2] 李昆,陈玉德,谷勇,等.云南野生余甘子果实类群及其分布特点研究[J].林业科学研究,1994(6):606-611. [LI Kun, CHEN Yude, GU Yong, et al. A study on the groups and distribution characteristics of wild *Emblca* in yunnan province[J]. Forest Research, 1994(6): 606-611.]
- [3] MARYAM G, LIU Z W, IAHTISHAMUIHAQ, et al. Functional and nutraceutical significance of *Amla* (*Phyllanthus emblica* L.): A review[J]. Antioxidants, 2022, 11(5): 816.
- [4] 陈智毅,刘学铭,吴继军,等.余甘子的药理研究和利用综述[J].中国南方果树,2004(1):58-61. [CHEN Zhiyi, LIU Xueming, WU Jijun, et al. A review of the pharmacological research and utilization of *Phyllanthus Emblica*[J]. South China Fruits, 2004(1): 58-61.]
- [5] 王建超,陈志峰,郭林榕.不同采收期对余甘子果实品质的影响[J].中国南方果树,2017,46(6):104-108. [WANG Jianchao, CHEN Zhifeng, GUO Linrong. Effect of different harvesting periods on fruit quality of *Phyllanthus Emblica*[J]. South China Fruits, 2017, 46(6): 104-108.]
- [6] 管芹,冯丹萍,段宝忠,等.余甘子化学成分、药理作用研究进展及质量标志物预测分析[J/OL].中草药:1-14 [2023-02-02]. <https://kns-cnki-net.wvnp.ncu.edu.cn/kcms/detail/12.1108.R.20220621.0902.002.html>. [GUAN Qin, FENG Danping, DUAN Baozhong, et al. Advances in research on chemical constituents and pharmacological effects of *Phyllanthi fructus* and prediction and analysis of quality markers[J/OL]. Chinese Traditional and Herbal Drugs: 1-14 [2023-02-02]. <https://kns-cnki-net.wvnp.ncu.edu.cn/kcms/detail/12.1108.R.20220621.0902.002.html>.]
- [7] LIU Xiaoli, CUI Chun, ZHAO Mouming, et al. Identification of phenolics in the fruit of *emblica* (*Phyllanthus emblica* L.) and their antioxidant activities[J]. Food Chemistry, 2008, 109(4): 909-915.
- [8] WU Min, CAI Jianhang, FANG Zhengfeng, et al. The composition and anti-aging activities of polyphenol extract from *Phyllanthus emblica* L. fruit[J]. Nutrients, 2022, 14(4): 857-857.
- [9] JAIJOY K, SOONTHORNCHAREONNON N, PANTHONG A, et al. Anti-inflammatory activity and toxicity of the standardised water extract of *Phyllanthus emblica* L.[J]. Planta Medica, 2010, 76(12): 127-127.
- [10] DV S P, VANGALAPATI M, MUNAWAR T. Evaluation of anticancer activity of polyherbal extract of terminalia chebula, *Phyllanthus emblica* and dimocarpus longan on Caco-2 colorectal cancer cell lines[J]. International Journal of Innovative Technology and Exploring Engineering (IJITEE), 2019, 9(1): 700-706.
- [11] GAN Jin, ZHANG Xin, MA Chenjing, et al. Purification of polyphenols from *Phyllanthus emblica* L. pomace using macroporous resins: Antioxidant activity and potential anti-Alzheimer's effects[J]. Journal of Food Science, 2022, 87(3): 1244-1256.
- [12] AROKIASAMY J T, MATHIYAZAHAN D, RAJA W T, et al. Tannoid principles of *Emblca officinalis* renovate cognitive deficits and attenuate amyloid pathologies against aluminum chloride induced rat model of Alzheimer's disease[J]. Nutritional Neuroscience, 2016, 19(6): 269-278.
- [13] 刘静敏,史静兰,鲁江,等.体外模拟胃肠消化过程中四种茶叶活性成分及抗氧化性变化规律[J].食品工业科技,2020,41(1):301-306. [LIU Jingmin, SHI Jinglan, LU Jiang, et al. Changes of active constituents and antioxidant properties of four kinds of tea during gastrointestinal digestion *in vitro*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(1): 301-306.]
- [14] 李安国,贺石林,邓常清.食用植物及其植物化学物质对慢性疾病的化学预防概述[J].湖南中医药大学学报,2018,38(2):228-234. [LI Anguo, HE Shilin, DENG Changqing. Chemopreventive effects of edible plants and their phytochemicals on chronic diseases[J]. Journal of Hunan University of Chinese Medicine, 2018, 38(2): 228-234.]
- [15] 曾子聪.挤压加工对糙米多酚及其抗氧化性影响的研究[D].南昌:南昌大学,2019. [ZENG Zicong. Study on influence of extrusion processing on phenolic compounds and antioxidant capacity of brown rice[D]. Nanchang: Nanchang University, 2019.]
- [16] RAGAB F M, MAHMOUD A, VINCENZO T. *In vitro* antioxidant activities of resveratrol, cinnamaldehyde and their synergistic effect against cyadox-induced cytotoxicity in rabbit erythrocytes[J]. Drug and Chemical Toxicology, 2017, 40(2): 196-205.
- [17] 朱秀灵,叶精勤,盛伊健,等.体外模拟消化对苹果多酚及其抗氧化活性的影响[J].食品与发酵工业,2020,46(8):63-71. [ZHU Xiuling, YE Jingqin, SHENG Yijian, et al. Effects of *in vitro* simulated digestion on apple polyphenols and their antioxidant activities[J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(8): 63-71.]
- [18] 李亚,陈卫,庄晶晶,等.体外消化对蓝莓活性成分及防护氧化损伤的影响[J].中国食品学报,2015,15(8):10-17. [LI Ya, CHEN Wei, ZHUANG Jingjing, et al. Effects of an *in vitro* digestion on active components and cellular oxidative damage protection of blueberry[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2015, 15(8): 10-17.]
- [19] 杨冰鑫,刘晓丽.余甘子总多酚的提取及其抗氧化活性研究[J].食品工业科技,2019,40(16):151-155,162. [YANG Bingx-

- in, LIU Xiaoli. Extraction and antioxidant activity of polyphenols from *Phyllanthus emblica* L[J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(16): 151-155, 162.]
- [20] 赵谋明, 刘晓丽, 崔春, 等. 余甘子多酚响应面法优化提取及其抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2007(6): 117-120. [ZHAO Mouming, LIU Xiaoli, CUI Chun, et al. Study on the optimizing extraction processing of polyphenol from *Phyllanthus emblica* L. fruit by method of response surface analysis and its antioxidant activity[J]. Science and Technology of Food Industry, 2007(6): 117-120.]
- [21] 李张伟, 马坚斌, 曾绮杨, 等. 余甘子黄酮的提取及其抗氧化作用研究[J]. 江苏农业科学, 2010(2): 287-289. [LI Zhangwei, MA Shubin, ZENG Qiyang, et al. Study on the extraction of flavonoids from *Phyllanthus emblica* L. and its antioxidant activity[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2010(2): 287-289.]
- [22] JACOBS D R, STEFFEN L M. Nutrients, foods, and dietary patterns as exposures in research: A framework for food synergy[J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 2003, 78(3 Suppl): 508S-513S.
- [23] 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 Xi-angyan, ZHONG Kui, TONG Litao, et al. Changes in polyphenols content and antioxidant activity during *in vitro* digestion of brown rice[J]. Food Science, 2018, 39(16): 105-111.]
- [24] 潘瑶, 郑时莲, 邹兴平, 等. 葡萄、芒果、草莓乙醇提取物抗氧化活性组分分析及其抗氧化相互作用[J]. 食品科学, 2017, 38(4): 133-140. [PAN Yao, ZHENG Shilian, ZOU Xingping, et al. Analysis of antioxidant compounds in ethanol extracts of grape, mango and strawberry and their interactions[J]. Food Science, 2017, 38(4): 133-140.]
- [25] YANG Baoru, KORTESNIEMI M, LIU Pengzhan, et al. Analysis of hydrolyzable tannins and other phenolic compounds in emblic leafflower (*Phyllanthus emblica* L.) fruits by high performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(35): 8672-8683.
- [26] 胡淇睿. 喷雾干燥桑叶粉的制备及其多酚在体外消化过程中的变化[D]. 南昌: 南昌大学, 2021. [HU Qirui. Preparation of spray-dried whole mulberry leaves and the changes of the phenolic compounds during *in vitro* digestion[D]. Nanchang: Nanchang University, 2021.]
- [27] 王若兰, 田志琴, 李东岭, 等. 微波辅助提取小米中多酚类活性物质的研究[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2010, 31(6): 15-20. [WANG Ruolan, TIAN Zhiqin, LI Dongling, et al. Study on microwave extraction of bioactive polyphenol compound from foxtail millet[J]. Journal of Henan University of Technology(Natural Science Edition), 2010, 31(6): 15-20.]
- [28] 李文婷, 邹安迪, 李红艳, 等. 黑色小扁豆中不同结合态酚类含量、花青素组成及其抗氧化活性研究[J]. 中国食品学报, 2020, 20(2): 299-306. [LI Wenting, ZOU Andi, LI Hongyan, et al. Studies on the contents of different binding phenolics, anthocyanin compose of black lentil and their antioxidant activity[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2020, 20(2): 299-306.]
- [29] 裴敏佳, 王晓雅, 熊华, 等. 基于超高效液相串联飞行时间质谱技术分析小扁豆壳多酚组成及其抗氧化活性[J]. 南昌大学学报(理科版), 2021, 45(3): 265-272. [PEI Minjia, WANG Xiaoya, XIONG Hua, et al. Analysis of lentilhulls phenolics and antioxidant capacity based on UPLC-ESI-QTOF-MS²[J]. Journal of Nanchang University(natural science), 2021, 45(3): 265-272.]
- [30] 王贵一, 陈昌琳, 何贵萍, 等. 模拟体外消化过程中芒果发酵液的抗氧化能力研究[J]. 食品科技, 2021, 46(12): 110-115. [WANG Guiyi, CHEN Changlin, HE Guiping, et al. Antioxidant capacity of mango fermented beverage in simulated digestion *in vitro*[J]. Food Science and Technology, 2021, 46(12): 110-115.]
- [31] 汪芙蓉. 体外模拟消化对酚类化合物稳定性和抗氧化活性的影响[D]. 南昌: 南昌大学, 2020. [WANG Furong. Stability and antioxidant activity of phenolic compounds *in vitro* digestion[D]. Nanchang: Nanchang University, 2020.]
- [32] 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. [FAN Lijun, SONG Ankang, WANG Zhipeng, et al. Changes of antioxidant components and antioxidant activity of grape seed polyphenol extracts during *in vitro* simulated digestion[J]. Food Science and Technology, 2022, 47(6): 235-242.]
- [33] 封易成, 牟德华. 体外模拟胃肠消化过程中山楂的活性成分及抗氧化性规律[J]. 食品科学, 2018, 39(7): 139-145. [FENG Yicheng, MOU Dehua. Changes in active components and antioxidant activity of hawthorn during simulated gastrointestinal digestion *in vitro*[J]. Food Science, 2018, 39(7): 139-145.]
- [34] 陈洪彬, 周婕, 吴锦惠, 等. 余甘子总黄酮超声波辅助提取工艺的优化[J]. 亚热带植物科学, 2014, 43(4): 293-297. [CHEN Hongbin, ZHOU Jie, WU Jinhui, et al. Optimization of extracting technology of total flavonoids in *Phyllanthus emblica* by ultrasonic-assisted[J]. Subtropical Plant Science, 2014, 43(4): 293-297.]
- [35] 刘冬, 万红霞, 赵旭, 等. 小麦不同部位在体外模拟消化过程中抗氧化活性的变化规律[J]. 现代食品科技, 2016, 32(4): 94-99, 113. [LIU Dong, WAN Hongxia, ZHAO Xu, et al. Changes in antioxidant activity in different parts of wheat during *in vitro* simulated digestion[J]. Modern Food Science and Technology, 2016, 32(4): 94-99, 113.]
- [36] 从彦丽, 彭梦雪, 王慧清, 等. 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[J]. 现代食品科技, 2016, 32(6): 29-34, 84. [CONG Yanli, PENG Mengxue, WANG Huiqing, et al. Changes in polyphenol and flavonoid content and antioxidant activity of pears during *in vitro* simulated gastrointestinal digestion[J]. Modern Food Science and Technology, 2016, 32(6): 29-34, 84.]
- [37] CHEN Jinghua, KOU Tingting, FAN Yanli, et al. Antioxidant activity and stability of the flavonoids from *Lycium barbarum* leaves during gastrointestinal digestion *in vitro*[J]. International Journal of Food Engineering, 2020, 16(7): 1-10.
- [38] SORKA Z, CISOWSKI W. Hydrogen peroxide scavenging, antioxidant and anti-radical activity of some phenolic acids[J]. Food and Chemical Toxicology, 2003, 41(6): 753-758.
- [39] PEKAL A, PYRZYNSKA K. Effect of pH and metal ions on DPPH radical scavenging activity of tea[J]. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 2015, 66(1): 58-62.
- [40] 李滨旭. 黑莓酚类物质抗氧化活性及体外模拟消化研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2020. [LI Binxu. Study on antioxidant activity of blackberry phenolic compounds and *in vitro* simulated digestion[D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2020.]
- [41] 张灿, 张康逸, 孙艳敏, 等. 青麦仁饼干多酚及抗氧化活性在模拟胃肠消化后的变化研究[J]. 食品科技, 2020, 45(10): 82-87. [ZHANG Can, ZHANG Kangyi, SUN Yanmin, et al. Effects of *in vitro* gastrointestinal digestion on phenolics and antioxidant activity of green wheat kernels biscuits[J]. Food Science and Technology, 2020, 45(10): 82-87.]