

体外模拟消化过程中青川核桃壳和分心木 抗氧化成分及活性的变化

Effects of in vitro simulated digestion on antioxidant components and activities of walnut shell and distraction wood

杜 昕^{1,2,3} 张新悦¹ 王 芳^{1,2,3} 罗 琴¹

DU Xin^{1,2,3} ZHANG Xinyue¹ WANG Fang^{1,2,3} LUO Qin¹

谢 庆¹ 赵英琼¹ 刘雨潇¹

XIE Qing¹ ZHAO Yingqiong¹ LIU Yuxiao¹

(1. 成都师范学院化学与生命科学学院, 四川 成都 611130; 2. 成都师范学院食品发酵研究所,

四川 成都 611130; 3. 特色园艺生物资源开发与利用四川省高等学校重点实验室, 四川 成都 611130)

(1. College of Chemistry and Life Sciences, Chengdu Normal University, Chengdu, Sichuan 611130, China; 2. Institute of Food Fermentation, Chengdu Normal University, Chengdu, Sichuan 611130, China; 3. Sichuan Provincial Key Laboratory for Development and Utilization of Characteristic Horticultural Biological Resources, Chengdu, Sichuan 611130, China)

摘要:目的:充分利用核桃副产物资源。方法:采用超声辅助乙醇提取核桃壳和分心木抗氧化成分,探究其提取物在体外模拟消化过程中抗氧化成分(总酚、总黄酮含量)和抗氧化性(DPPH 自由基清除活性、ABTS 自由基清除活性、羟自由基清除活性,FRAP 和 Fe^{2+} 螯合力)的变化规律,并分析其相关性。结果:分心木的总酚、总黄酮含量、抗氧化活性始终高于核桃壳的($P < 0.05$);经体外模拟消化后,分心木和核桃壳中总酚、总黄酮含量逐渐降低($P < 0.05$),DPPH 自由基清除力、ABTS 自由基清除力和 FRAP 抗氧化能力为口腔>胃>肠($P < 0.05$),与总酚、总黄酮含量变化趋势一致。除 Fe^{2+} 螯合外,核桃壳和分心木提取物消化液的抗氧化性与总酚和总黄酮含量呈显著正相关($P < 0.05$)。结论:核桃壳和分心木均具有一定抗氧化活性,且分心木的抗氧化活性优于核桃壳,有望作为天然抗氧化功能食品或抗氧化剂的原料来源。

关键词:核桃壳;分心木;体外模拟消化;抗氧化活性

Abstract: Objective: This study aimed to make full use of walnut by-products. **Methods:** Ultrasonic-assisted ethanol extraction

method was used to extract the antioxidant components of walnut shell and distraction wood. The changes of antioxidant components (total phenols and total flavonoids) and antioxidant activities (DPPH, ABTS, hydroxyl radical scavenging ability, Iron reduction antioxidant capacity-FRAP and ferrous ion chelating activity) of walnut by-products extract during the simulated digestion were studied in vitro, and their correlation was analyzed. **Results:** The total phenols (TPC), total flavonoids (TFC) content, and antioxidant activity of distraction wood were always higher than those of walnut shells ($P < 0.05$). After simulated in vitro digestion, the TPC and TFC of both walnut shell and distraction wood decreased gradually ($P < 0.05$). The antioxidant capacity of FRAP and DPPH, ABTS+ free radical scavenging capacity were approximately as follows: oral > stomach > intestine ($P < 0.05$), a trend consistent with the changes of TPC and TFC. Except for Fe^{2+} chelating activity, the antioxidant capacity of the digestive juices showed a significant positive correlation with TPC and TFC ($P < 0.05$). **Conclusion:** Distraction wood extract has an impressive antioxidant activity which was superior to walnut shell extract and was expected to be used as a natural antioxidant functional food or raw material source of antioxidants.

Keywords: walnut shell; distracted wood; in vitro digestion; antioxidant

基金项目:教育部大学生创新创业训练计划支持项目(编号: S2022143891223, S202314389191, S202314389128)

作者简介:杜昕,女,成都师范学院讲师,硕士。

通信作者:王芳(1986—),女,成都师范学院讲师,博士。

E-mail: wangfangbia@163.com

收稿日期:2023-07-29 **改回日期:**2023-12-24

核桃(*Juglans regia* L.),属胡桃科核桃属落叶乔木,

全球产量超过 400 万 t,在中国既是经济树种又是重要生态树种,其产量居世界第一^[1]。核桃壳为核桃去仁后的木质外壳,分心木为核桃内的木质隔膜。研究^[2-4]表明,核桃壳及分心木富含多种活性成分,包含黄酮、酚类、有机酸、油脂、苷类等活性物质,具有抗氧化、抑菌、抗炎、降血糖和免疫增强等作用。Jalili 等^[2]发现 7 种不同品种核桃壳中总酚含量与其还原力、自由基清除能力呈正相关。赵焕新等^[3]从分心木中分离出的多个酚酸类、黄酮类化合物均有不同程度的 DPPH 自由基清除活性。何春梅等^[4]采用 UPLC 法测定核桃壳中多酚各组分原儿茶酸(18.37 ± 2.23) $\mu\text{g/g}$ 、咖啡酸(5.50 ± 0.12) $\mu\text{g/g}$ 、芦丁(148.50 ± 3.41) $\mu\text{g/g}$ 等,且对 ABTS 自由基的清除活性较强。孙海涛等^[5]以 50%乙醇为溶剂提取野生山核桃壳多酚,该多酚在低温、避光、酸性和中性条件下稳定性好,能保持一定的抗氧化还原性。

有研究^[6-7]表明,多酚、黄酮类物质的生物利用度受消化环境的影响,从口腔到胃肠道,生物体内消化酶或酸性环境可通过破坏化学共价键,对多酚以及黄酮类物质的生物活性产生重要影响。体外模拟消化具有成本低、耗时短、可重复性强等优点。陈壁等^[8]研究表明,青裸经体外模拟胃肠道消化后,总酚和类黄酮含量分别提高了 92.87% 和 13.89%,抗氧化活性提高了 93.17% 和 14.97%。Tu 等^[9]研究了板栗内皮和外皮经体外胃肠消化后多酚含量和抗氧化活性的变化。Jara-Palacios 等^[10]研究发现,不同白葡萄酒酿造副产物提取物在体外胃肠消化过程中酚类化合物和抗氧化活性均有所提高。研究拟建立体外模拟消化模型,分析青川核桃壳和分心木的酚类及黄酮物质释放规律及抗氧化能力变化,为核桃壳和分心木功能性评价与精深加提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

核桃壳(WS)、分心木(DW):青川核桃四川广元;

唾液淀粉酶(40 000 U/g)、胃蛋白酶(1:3 000)、胃脂肪酶(30 U/mg)、胰蛋白酶(1:250)、胆盐、DPPH、福林酚试剂、没食子酸、芦丁、抗坏血酸、水杨酸、醋酸盐缓冲液、TPTZ 溶液、ABTS、EDTA-2Na、菲洛嗪:合肥博美生物科技有限责任公司;

$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、NaOH、无水乙醇、 FeCl_3 、 FeSO_4 、KCl、 KH_2PO_4 、 NaHCO_3 :分析纯,成都市科龙化工试剂厂;

NaCl、 $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ 、HCl、 Na_2CO_3 、 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 、 CH_3COOK 、 FeCl_2 、 H_2O_2 、 $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$:分析纯,成都金山化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

旋转蒸发仪:N-1300V-WB 型,上海爱朗仪器有限公司;

分析天平:JA303 型,常州市幸运电子设备有限公司;
电热恒温水浴锅:HWS12 型,上海一恒科技有限公司;

多功能粉碎机:800A 型,永康市红太阳机电有限公司;

超声波清洗器:KH3200B 型,昆山禾创超声仪器有限公司;

恒温培养摇床:THZ-100 型,上海一恒科技有限公司;

紫外分光光度计:UV754 型,上海菁华科技仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 样品制备 根据肖敏^[11]的方法稍加修改。核桃壳、分心木粉碎后,过 80 目筛。核桃壳粉溶于 60%乙醇溶液[$m_{\text{核桃壳}}:V_{\text{乙醇}}$ 为 1:35 (g/mL)]中,50℃超声提取 45 min;分心木粉溶于 60%乙醇溶液[$m_{\text{分心木}}:V_{\text{乙醇}}$ 为 1:40 (g/mL)]中,45℃超声提取 55 min。4 000 r/min 离心 10 min,上清液分别于 50、45℃旋转蒸发,用 60%乙醇定容至 50 mL,4℃保存备用。

1.3.2 体外模拟消化模型建立 根据 Brodtkorb 等^[12]的方法稍加修改。

(1) 口腔消化:取 5 mL 样品加入到 4 mL 预热至 37℃的电解质溶液[内含 0.025 mL $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.3 mol/L)、0.75 mL 唾液淀粉酶(75 U/mL)、0.225 mL 蒸馏水]中,用 HCl 调节 pH 为 7.0,37℃下分别振荡 0,4,8 min,−20℃灭酶 10 min,4 000 r/min 离心 15 min,收集上清液。以不加样品为空白对照,分别得到唾液消化样品 SD_0 、 SD_4 、 SD_8 ,测定其总酚、总黄酮含量及 SD_8 的体外抗氧化性。

(2) 胃消化:取 10 mL SD_8 样品加入到 8 mL 预热至 37℃的电解质溶液[内含 0.005 mL $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.3 mol/L)、0.667 mL 胃蛋白酶(2 000 U/mL)、0.48 mL 胃脂肪酶(60 U/mL)、0.448 mL 蒸馏水]中,用 HCl (5 mol/L)调节 pH 为 3.0。37℃下分别振荡 0,30,60,90,120 min,−20℃灭酶 10 min,4 000 r/min 离心 15 min。以不加样品为空白对照,分别得到唾液—胃消化样品 SGD_0 、 SGD_{30} 、 SGD_{60} 、 SGD_{90} 、 SGD_{120} ,测定其总酚、总黄酮含量及 SGD_{120} 的体外抗氧化性。

(3) 肠消化:取 20 mL SGD_{120} 样品加入到 8.5 mL 预热至 37℃的电解质溶液[内含 0.04 mL $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.3 mol/L)、5 mL 胰蛋白酶(100 U/mL)、2.5 mL 胆盐(10 mmol/L)、3.96 mL 蒸馏水]中,用 NaOH (5 mol/L)调节 pH 为 7.0,37℃下分别振荡 0,60,120,180 min,−20℃灭酶 10 min,4 000 r/min 离心 15 min。以不加样品为空白对照,分别得到唾液—胃肠消化样品 SGID_0 、 SGID_{60} 、 SGID_{120} 、 SGID_{180} ,测定其总酚、总黄酮含量及

SGID₁₈₀ 的体外抗氧化性。

1.3.3 总酚含量测定 参照 Wang 等^[13] 的方法,样品中总酚含量以每克样品中所含没食子酸(GAE)的毫克数表示。

1.3.4 总黄酮含量测定 参照 GB/T 20574—2006,样品中总黄酮含量以每克样品中芦丁(RE)的毫克数表示。

1.3.5 DPPH 自由基清除活性测定 根据 Zhang 等^[14] 的方法,修改如下:以抗坏血酸作阳性对照。用 0.010~0.055 mg/mL 的抗坏血酸储备液进行校准($y = 55.0857x - 0.1064$, $R^2 = 0.9766$),DPPH 自由基清除活性以每克样品中抗坏血酸的毫克数表示。

1.3.6 ABTS 自由基清除活性测定 参照 Re 等^[15] 的方法并加以改进。将 7 mmol/L ABTS⁺ 和 2.45 mmol/L 的过硫酸钾混匀,室温避光下静置过夜,将生成的 ABTS 溶液用水稀释,使其在 30 °C、734 nm 处的吸光度为 0.70 ± 0.02,得到 ABTS 工作液。取 2 mL 样品溶液,分别加入 2 mL ABTS 溶液,室温避光放置 6 min,测定 734 nm 处吸光度。以抗坏血酸为阳性对照,用 0.010~0.055 mg/mL 抗坏血酸标准液进行校准($y = 195.47x - 0.004$, $R^2 = 0.9774$)。ABTS 自由基清除活性以每克样品中抗坏血酸的毫克数表示。

1.3.7 羟自由基清除活性测定 取 1 mL 样品溶液与 1 mL FeSO₄ (9 mmol/L) 和 1 mL H₂O₂ (8.8 mmol/L) 于 37 °C 反应 10 min,加入 1 mL (9 mmol/L) 水杨酸—乙醇溶液反应 10 min,5 000 r/min 离心 5 min^[16]。取上清液,测定 550 nm 处吸光值,以抗坏血酸为阳性对照,用 0.010~0.055 mg/mL 的抗坏血酸储备液进行校准($y = 8.436x + 0.2437$, $R^2 = 0.9637$)。羟自由基清除活性以每克样品中抗坏血酸的毫克数表示。

1.3.8 铁离子还原力测定 FRAP 工作溶液:将 100 mL 醋酸盐缓冲液(0.3 mol/L, pH 3.6)、10 mL TPTZ-HCl 溶液(10 mmol/L)和 10 mL FeCl₃ (20 mmol/L)混匀,使用前于 37 °C 下加热。取 1 mL 样品加入新制备的 FRAP 溶液(5 mL)中,混匀,37 °C 黑暗中放置 20 min。空白组用蒸馏水代替,以亚硫酸铁为阳性对照,用 0.010~0.055 mg/mL 的硫酸亚铁溶液进行校准($y = 0.0812x + 0.2907$, $R^2 = 0.9692$)。铁离子还原力以每克样品中亚硫酸铁的毫克数表示^[17]。

1.3.9 亚铁离子螯合能力测定 取 0.8 mL 样品溶液与 50 μL FeCl₂ (2 mmol/L) 和 2.75 mL 蒸馏水混匀,加入 200 μL 铁啖(5 mmol/L)引发反应,剧烈摇动混合物,室温下反应 10 min,测定 562 nm 处吸光度。以 EDTA-2Na 为阳性对照^[18],用 0.010~0.055 mg/mL 的 EDTA-2Na 储备液进行校准($y = 15.087x + 0.0577$, $R^2 = 0.9932$)。亚铁离子螯合能力以每克样品中 EDTA-2Na 的毫克数表示。

1.3.10 相关性分析 分析核桃壳和分心木在 SD₈、SGD₁₂₀、SGID₁₈₀ 阶段总酚、总黄酮含量与抗氧化活性(DPPH 自由基清除活性、ABTS 自由基清除活性、FRAP、羟自由基清除活性和 Fe²⁺ 螯合力)之间的相关性。

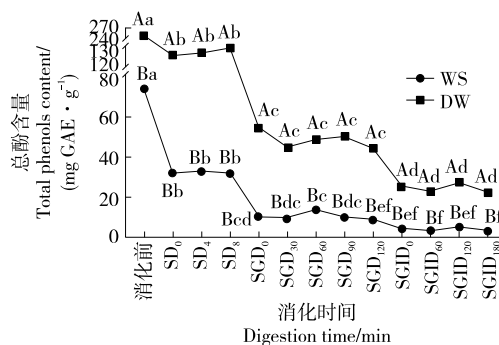
1.4 统计分析

所有试验测定 3 次,结果用平均值 ± 标准偏差表示;使用 IBM SPSS Statistics 19 软件进行统计分析,采用 Prism 8.0 软件制图。

2 结果与讨论

2.1 体外模拟消化过程中总酚含量变化

由图 1 可知,消化前,分心木中的总酚含量显著高于核桃壳中的,为核桃壳的 3.342 倍($P < 0.05$)。核桃壳和分心木中总酚含量均按消化顺序下降,与李如蕊等^[19] 的研究结果一致。口腔消化 0~8 min,分心木和核桃壳中的总酚含量变化不显著,口腔消化 8 min 后,分心木和核桃壳中的总酚含量分别为未消化的 0.584,0.431 倍($P < 0.05$);胃消化 0~120 min,分心木和核桃壳中的总酚含量变化不显著。胃消化 60 min 时总酚含量上升,可能是部分结合态多酚在胃蛋白酶和强酸的作用下水解释放出多酚,从而使总酚含量上升;随着消化时间的延长,胃蛋白酶活性受到抑制,从而减少多酚释放^[20],与范利君等^[21] 的研究结果一致。胃消化 120 min 后,分心木和核桃壳中的总酚含量为口腔消化 8 min 的 0.341,0.272 倍($P < 0.05$);在肠消化初始阶段,总酚含量降低可能是由于肠消化液的加入对总酚起到稀释作用,肠消化 120 min 时,总酚含量增加可能是由于在胰蛋白酶的作用下,底物中的结合态酚被分解,释放游离态酚,因此总酚含量增加。肠消化 180 min 时分心木和核桃壳中的总酚含量是胃消化



小写字母不同表示同一样品随消化时间变化的差异有统计学意义($P < 0.05$);大写字母不同表示相同消化时间下样品间差异有统计学意义($P < 0.05$)

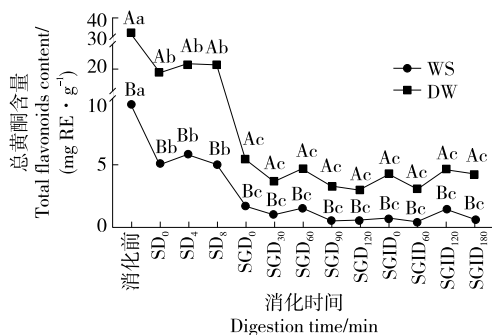
图 1 核桃壳和分心木经体外模拟消化前后总酚含量变化趋势

Figure 1 Walnut shell and distracted by the total phenol content before and after in vitro digestion trends

120 min 的 0.501 ($P < 0.05$), 0.386 倍 ($P > 0.05$), 胰蛋白酶虽然会促进结合态多酚释放成游离态酚, 但在碱性环境下, 酚酸不稳定, 会发生降解, 因此在肠消化阶段, 总酚释放量下降^[22]。

2.2 体外模拟消化过程中总黄酮含量变化

由图 2 可知, 消化前, 分心木中的总黄酮含量为核桃壳的 3.163 倍 ($P < 0.05$)。核桃壳和分心木中总黄酮含量从口腔消化到胃消化显著下降 ($P < 0.05$), 从胃消化到肠消化稍有增加, 但差异不显著 ($P > 0.05$)。口腔消化 8 min 时分心木和核桃壳中的总黄酮含量为未消化的 0.686, 0.517 倍 ($P < 0.05$); 胃消化 120 min 时分心木和核桃壳中的总黄酮含量为口腔消化 8 min 时的 0.142, 0.127 倍 ($P < 0.05$); 肠消化 180 min 时分心木和核桃壳中的总黄酮含量为胃消化 120 min 时的 1.408, 1.098 倍 ($P > 0.05$)。这与李进才等^[23]研究结果相似。经肠消化后, 总黄酮含量上升, 可能与胰蛋白酶和胆汁作用于核桃壳和分心木总黄酮, 破坏细胞壁上的酯键, 释放出黄酮类化合物有关^[24]。在同等消化条件下, 分心木中总黄酮含量均显著高于核桃壳的 ($P < 0.05$), 与总酚含量变化趋势一致。



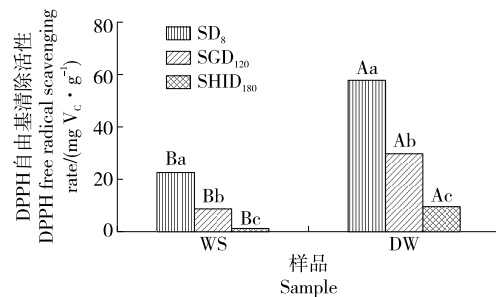
小写字母不同表示同一样品随消化时间变化的差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 大写字母不同表示相同消化时间下样品间差异有统计学意义 ($P < 0.05$)

图 2 核桃壳和分心木经体外模拟消化前后总黄酮含量变化趋势

Figure 2 Walnut shell and distracted by the total content of flavonoids in vitro digestion and trends

2.3 体外模拟消化过程中抗氧化活性变化

2.3.1 DPPH 自由基清除活性 由图 3 可知, 核桃壳和分心木的 DPPH 自由基清除率均按消化顺序显著下降 ($P < 0.05$), 同等消化条件下, 分心木的 DPPH 自由基清除率显著高于核桃壳的, 且其在口腔、胃、肠消化阶段分别为核桃壳的 2.553, 3.275, 5.761 倍 ($P < 0.05$), 与总酚含量变化趋势一致, 与 Floegel 等^[25-26]的研究结果一致。DPPH 自由基清除率与总酚含量呈显著正相关, 说明酚类物质是影响核桃壳、分心木中抗氧化能力的主要成分。核桃壳和分心木在胃消化阶段的 DPPH 自由基清除率分



小写字母不同表示同一样品随消化时间变化的差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 大写字母不同表示相同消化时间下样品间差异有统计学意义 ($P < 0.05$)

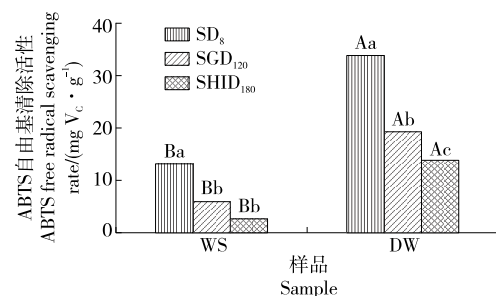
图 3 核桃壳和分心木的 DPPH 自由基清除活性

Figure 3 DPPH free radical scavenging rate of walnut shell and distractor wood

别为口腔消化的 0.406, 0.521 倍 ($P < 0.05$), 在肠消化阶段的 DPPH 自由基清除率分别为胃消化阶段的 0.187, 0.328 倍 ($P < 0.05$)。

2.3.2 ABTS 自由基清除活性 由图 4 可知, 核桃壳和分心木的 ABTS 自由基清除率均按消化顺序显著下降 ($P < 0.05$), 同等消化条件下, 分心木的 ABTS 自由基清除率显著高于核桃壳的, 且其在口腔、胃、肠消化阶段分别为核桃壳的 2.565, 3.173, 4.980 倍 ($P < 0.05$), 与总酚含量变化趋势一致。核桃壳和分心木在胃消化阶段的 ABTS 自由基清除率分别为口腔消化的 0.459, 0.568 倍 ($P < 0.05$), 在肠消化阶段的 ABTS 自由基清除率分别为胃消化阶段的 0.465 ($P > 0.05$), 0.730 ($P < 0.05$) 倍。核桃壳和分心木的 ABTS 自由基清除率变化趋势与 DPPH 自由基的一致, 均随着多酚含量的减少而降低, 与范利君等^[21]的研究一致, 可能与总酚的释放、降解和转化有关。

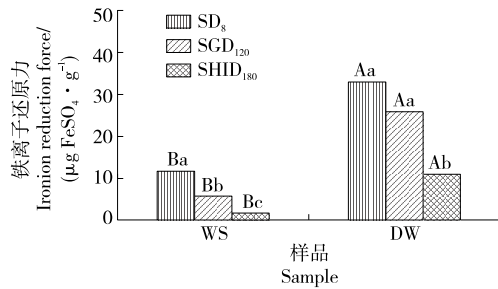
2.3.3 铁离子还原力 由图 5 可知, 核桃壳和分心木的铁离子还原力均按消化顺序下降, 同等消化条件下, 分心木的铁离子还原力显著高于核桃壳的, 且其在口腔、胃、



小写字母不同表示同一样品随消化时间变化的差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 大写字母不同表示相同消化时间下样品间差异有统计学意义 ($P < 0.05$)

图 4 核桃壳和分心木的 ABTS 自由基清除活性

Figure 4 ABTS free radical scavenging rate of walnut shell and distractor wood



小写字母不同表示同一样品随消化时间变化的差异有统计学意义($P<0.05$);大写字母不同表示相同消化时间下样品间差异有统计学意义($P<0.05$)

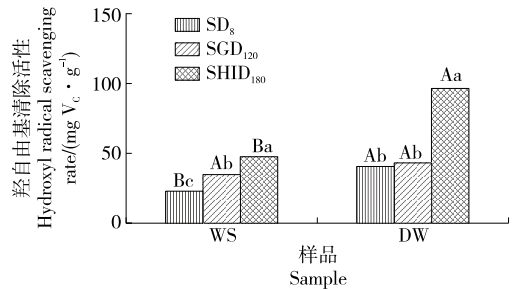
图 5 核桃壳和分心木的铁离子还原力

Figure 5 Iron ion reduction force of walnut shell and distractor wood

肠消化阶段分别为核桃壳的 2.771, 4.129, 4.837 倍($P<0.05$),与总酚含量变化趋势一致。核桃壳和分心木在胃消化阶段的铁离子还原力分别为口腔消化的 0.529($P<0.05$), 0.789($P>0.05$)倍,在肠消化阶段的铁离子还原力为胃消化阶段的 0.369, 0.432 倍($P<0.05$)。其中,铁离子还原力与 DPPH 自由基、ABTS 自由基清除率变化趋势一致,与 Dudonne 等^[27]的研究结果也一致。

2.3.4 羟自由基清除活性 由图 6 可知,核桃壳和分心木中的羟自由基清除率均按消化顺序上升,同等消化条件下,分心木的羟自由基清除率显著高于核桃壳的,且其在口腔、胃、肠消化阶段分别为核桃壳的 1.695($P<0.05$), 1.236($P>0.05$), 1.999($P<0.05$)倍。核桃壳和分心木在胃消化阶段的羟自由基清除活性分别为口腔消化的 1.465($P<0.05$), 1.068($P>0.05$)倍,在肠消化阶段的羟自由基清除活性分别为胃消化阶段的 1.355, 2.191 倍($P<0.05$)。与肠消化阶段相比,胃消化阶段羟自由基清除活性相对较弱,因为羟自由基是通过电子转移、加成和脱氢等方式与分子相互作用,在胃消化阶段中强酸环境会影响电子转移,使得胃消化阶段中羟自由基清除活性较低^[28]。

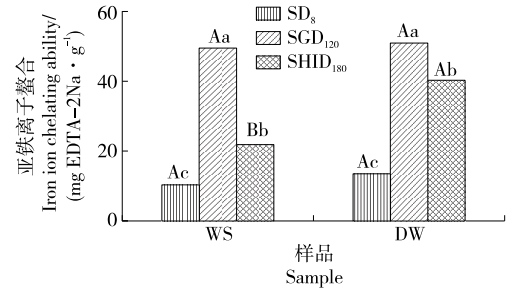
2.3.5 亚铁离子螯合 由图 7 可知,核桃壳和分心木中的 Fe^{2+} 螯合能力均先上升后下降($P<0.05$),同等消化条



小写字母不同表示同一样品随消化时间变化的差异有统计学意义($P<0.05$);大写字母不同表示相同消化时间下样品间差异有统计学意义($P<0.05$)

图 6 核桃壳和分心木的羟自由基清除活性

Figure 6 Hydroxyl radical scavenging rate of walnut shell and distractor wood



小写字母不同表示同一样品随消化时间变化的差异有统计学意义($P<0.05$);大写字母不同表示相同消化时间下样品间差异有统计学意义($P<0.05$)

图 7 核桃壳和分心木的亚铁离子螯合能力

Figure 7 Iron ion chelating ability of walnut shell and distractor wood

件下,分心木的 Fe^{2+} 螯合能力高于核桃壳的,且其在口腔、胃、肠消化阶段分别为核桃壳的 1.254($P>0.05$), 1.032($P>0.05$), 1.834($P<0.05$)倍。核桃壳和分心木在胃消化阶段的 Fe^{2+} 螯合能力分别为口腔消化阶段的 4.552, 3.746 倍($P<0.05$),在肠消化阶段的 Fe^{2+} 螯合能力分别为胃消化阶段的 0.446, 0.783 倍($P<0.05$)。

2.4 总酚、总黄酮含量与抗氧化活性的相关性

由表 1 可知,口腔消化阶段,总酚和总黄酮含量与

表 1 总酚、总黄酮含量与抗氧化活性的相关性[†]

Table 1 Correlation analysis of antioxidant components and antioxidant activity

指标	口腔消化阶段		胃消化阶段		肠消化阶段	
	总酚含量	总黄酮含量	总酚含量	总黄酮含量	总酚含量	总黄酮含量
DPPH 自由基清除活性	0.946 *	0.943 *	0.897 *	0.858 **	0.986 **	0.990 **
ABTS 自由基清除活性	0.995 *	0.993 *	0.993 **	0.992 **	0.996 **	0.994 **
铁离子还原力	0.983 **	0.979 **	0.995 **	0.996 **	0.996 **	0.996 **
羟自由基清除活性	0.990 **	0.987 **	0.828 *	0.870 *	0.996 **	0.989 **
Fe^{2+} 螯合能力	0.715	0.707	0.399	0.469	0.714	0.600

[†] ** 表示相关性极显著($P<0.01$); * 表示相关性显著($P<0.05$)。

DPPH 自由基清除活性、ABTS 自由基清除活性呈显著正相关($P < 0.05$),与羟自由基清除活性、铁离子还原力呈极显著正相关($P < 0.01$),与 Fe^{2+} 螯合能力呈正相关($P > 0.05$)。胃消化阶段,总酚和总黄酮含量与 DPPH 自由基清除活性、羟自由基清除活性呈显著正相关($P < 0.05$),与铁离子还原力、ABTS 自由基清除活性呈极显著正相关($P < 0.01$),与 Fe^{2+} 螯合能力呈正相关($P > 0.05$)。肠消化阶段,总酚和总黄酮含量与 DPPH 自由基清除活性、ABTS 自由基清除活性、铁离子还原力、羟自由基清除活性均呈极显著正相关($P < 0.05$),与 Fe^{2+} 螯合能力呈正相关($P > 0.05$)。

核桃壳和分心木的抗氧化活性与总酚、总黄酮的存在有关,与肖敏^[11]的研究一致。抗氧化活性与抗氧化成分之间的相关性不仅与酚类物质的成分、来源、存在形式有关,还与相关的测定方法有关,因此各指标相关性系数不一致^[22]。

3 结论

采用体外模拟口腔—胃—肠消化模型,研究了核桃副产物(核桃壳、分心木)抗氧化提取物在体外模拟消化过程中抗氧化成分与抗氧化活性的变化规律。结果表明,核桃壳与分心木提取物的抗氧化成分在消化过程中不稳定,容易发生降解或者转化,导致总酚含量、总黄酮含量、DPPH 自由基清除活性、ABTS 自由基清除活性和铁离子还原力均有所下降。模拟体外消化前后,分心木的总酚、总黄酮含量和抗氧化活性均高于核桃壳的,在模拟口腔、胃、肠消化过程中,分心木的总酚最大释放量可达核桃壳的 3.923, 3.932, 5.226 倍($P < 0.05$),总黄酮最大释放量可达核桃壳的 3.709, 3.148, 3.099 倍($P < 0.05$)。相关性分析表明,总多酚和总黄酮含量与 DPPH 自由基清除活性、ABTS 自由基清除活性、羟自由基清除活性、铁离子还原力均呈显著相关($P < 0.05$)。后续将通过 HPLC-DAD、ESI-Q-TOF-MS 对提取物消化前后酚类及黄酮类物质进行成分分析,研究其相互作用及代谢途径。

参考文献

[1] QUEIRÓS S G P, CARDOSO S, LOURENÇO A, et al. Characterization of walnut, almond, and pine nut shells regarding chemical composition and extract composition [J]. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 2020, 10(3): 175-188.

[2] JALILI A, HEYDARI R, SADEGHZADE A, et al. Reducing power and radical scavenging activities of phenolic extracts from *Juglans regia* hulls and shells[J]. *African Journal of Biotechnology*, 2012, 11(37): 9 040-9 047.

[3] 赵焕新, 景援朝, 白虹, 等. 分心木中的化学成分及抗氧化活性研究[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22(7): 54-57.

ZHAO H X, JING Y Z, BAI H, et al. Study on the chemical

constituents and antioxidant activities of distracted wood[J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2016, 22(7): 54-57.

[4] 何春梅, 陈冠林, 俞憬, 等. 核桃壳多酚的提取、含量测定及其抗氧化活性研究[J]. *广东药学院学报*, 2016, 32(2): 153-158.

HE C M, CHEN G L, YU J, et al. Extraction, content determination, and antioxidant activity of walnut shell polyphenols[J]. *Journal of Guangdong University of Pharmacy*, 2016, 32(2): 153-158.

[5] 孙海涛, 邵信儒, 姜瑞平, 等. 超声波—微波联合提取山核桃壳多酚及其稳定性[J]. *北方园艺*, 2015(24): 135-139.

SUN H T, SHAO X R, JIANG R P, et al. Ultrasonic-microwave combined extraction of pecan shell polyphenols and their stability [J]. *Northern Horticulture*, 2015(24): 135-139.

[6] LUCAS-GONZÁLEZ R, VIUDA-MARTOS M, PÉREZ-ALVAREZ J A, et al. In vitro digestion models suitable for foods: Opportunities for new fields of application and challenges[J]. *Food Research International*, 2018, 107(5): 423-436.

[7] BORDENAVE N, HAMAKE B R, FERRUZZI M G. Nature and consequences of non-covalent interactions between flavonoids and macronutrients in foods[J]. *Food and Function*, 2014, 5(1): 18-34.

[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 simulated gastrointestinal digestion and colonic fermentation on the bioavailability and antioxidant activity of polyphenols from long black barley[J]. *Food Science*, 2020, 41(21): 28-35.

[9] TU F, XIE C, LI H, et al. Effect of in vitro digestion on chestnut outer-skin and inner-skin bioaccessibility: The relationship between biotransformation and antioxidant activity of polyphenols by metabolomics[J]. *Food Chemistry*, 2021, 363: 130277.

[10] JARA-PALACIOS M J, GONÇALVES S, HERNANZ D, et al. Effects of in vitro gastrointestinal digestion on phenolic compounds and antioxidant activity of different white winemaking byproducts extracts[J]. *Food Research International*, 2018, 109(7): 433-439.

[11] 肖敏. 核桃壳/分心木黄酮类化合物提取及其抗氧化作用机理研究[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2022: 2-15.

XIAO M. Extraction and antioxidant mechanism of flavonoids from walnut shell/distracted wood [D]. Xianyang: Northwest University of Agriculture and Forestry Science and Technology, 2022: 2-15.

[12] BRODKORB A, EGGER L, ALMINGER M, et al. INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion [J]. *Nature Protocols*, 2019, 14(4): 991-1 014.

[13] WANG L, LUO Y, WU Y N, et al. Fermentation and complex enzyme hydrolysis for improving the total soluble phenolic contents, flavonoid aglycones contents and bio-activities of guava leaves tea[J]. *Food Chemistry*, 2018, 264: 189-198.

- [14] ZHANG W J, HUANG J, WANG W, et al. Extraction, purification, characterization and antioxidant activities of polysaccharides from *Cistanche tubulosa* [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2016, 93(A): 448-458.
- [15] RE R, PELLEGRINI N, PROTEGGENTE A, et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay[J]. Free Radical Biology and Medicine, 1999, 26 (9/10): 1 231-1 237.
- [16] LIU S, JIA M Y, CHEN J J, et al. Removal of bound polyphenols and its effect on antioxidant and prebiotics properties of carrot dietary fiber[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 93(8): 284-292.
- [17] RAZAK D L A, RASHID N Y A, JAMALUDDIN A B, et al. Enhancement of phenolic acid content and antioxidant activity of rice bran fermented with *Rhizopus oligosporus* and *Monascus purpureus*[J]. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2015, 4 (1): 33-38.
- [18] CAI L L, ZOU S S, LIANG D P, et al. Structural characterization, antioxidant and hepatoprotective activities of polysaccharides from *Sophora tonkinensis Radix*[J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 184 (15): 354-365.
- [19] 李如蕊, 陈欣, 茹月蓉, 等. 体外模拟消化过程中核桃花提取物抗氧化活性的变化[J]. 现代食品科技, 2020, 36(11): 196-201, 169.
- LI R X, CHEN X, RU Y R, et al. Changes of antioxidant activity of walnut flower extract during simulated digestion in vitro[J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36 (11): 196-201, 169.
- [20] 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 X L, YE J Q, SHENG Y J, et al. Effect of simulated digestion on apple polyphenols and their antioxidant activity in vitro[J]. Food and Fermentation Industry, 2020, 46(8): 63-71.
- [21] 范利君, 宋安康, 王志鹏, 等. 葡萄籽多酚提取物在体外模拟消化过程中抗氧化成分及抗氧化活性的变化[J]. 食品科技, 2022, 47(6): 235-242.
- FAN L J, SONG A K, WANG Z P, et al. Changes of antioxidant components and antioxidant activities of grape seed polyphenol extracts during simulated digestion in vitro[J]. Food Technology, 2022, 47(6): 235-242.
- [22] 师聪, 陈学红, 李茹, 等. 体外模拟胃肠消化对覆盆子抗氧化成分及其活性的影响[J]. 中国食品学报, 2023, 23(2): 83-90.
- SHI C, CHEN X H, LI R, et al. Effects of simulated gastrointestinal digestion in vitro on antioxidant components and their activities in Raspberry[J]. Chinese Journal of Food Science, 2023, 23(2): 83-90.
- [23] 李进才, 刘梦杰, 陈银焕, 等. 模拟消化中藜麦的酚类化合物释放和抗氧化活性[J]. 天津大学学报(自然科学与工程技术版), 2020, 53(8): 785-794.
- LI J C, LIU M J, CHEN Y H, et al. Release of phenolic compounds and antioxidant activity of quinoa during simulated digestion[J]. Journal of Tianjin University (Natural Science and Engineering Technology Edition), 2020, 53(8): 785-794.
- [24] WANG Z, LI S, GE S, et al. Review of distribution, extraction methods, and health benefits of bound phenolics in food plants[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(11): 3 330-3 343.
- [25] FLOEGEL A, KIM D O, CHUNG S J, et al. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2011, 24(7): 1 043-1 048.
- [26] 许芳溢, 李五霞, 吕曼曼, 等. 苦荞芽粉馒头体外消化后抗氧化能力研究[J]. 中国粮油学报, 2014, 29(12): 16-22.
- XU F Y, LI W X, LU M M, et al. Study on antioxidant capacity of Tartary buckwheat bread after digestion in vitro [J]. Chinese Journal of Grain and Oils, 2014, 29(12): 16-22.
- [27] DUDONNE S, VITRAC X, COUTIERE P, et al. Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(5): 1 768-1 774.
- [28] 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 Y C, MOU D H. Active components and antioxidant activity of Hawthorn during simulated gastrointestinal digestion in vitro[J]. Food Science, 2018, 39(7): 139-145.
-
- (上接第 72 页)
- [34] 梁嘉敏, 高芝炀, 陈绮梦, 等. 高效液相色谱法测定特殊医学用途全营养配方食品中烟酰胺[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(23): 8 638-8 642.
- LIANG J M, GAO Z S, CHEN Q M, et al. Determination of nicotinamide in nutritive formula food for special medical purposes by high performance liquid chromatography[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2020, 11(23): 8 638-8 642.
- [35] 陈彩云, 魏鲜娥, 蔡伟江, 等. 高效液相色谱法同时测定保健食品中泛酸、烟酰胺、维生素 B₁、维生素 B₂、维生素 B₆ 的含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(5): 1 866-1 871.
- CHEN C Y, WEI X E, CAI W J, et al. Determination of pantothenate, nicotinamide, vitamin B₁, vitamin B₂, and vitamin B₆ in healthy food by high performance liquid chromatography[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2017, 8(5): 1 866-1 871.
- [36] 邱世婷, 侯雪, 雷绍荣, 等. 超高效液相色谱—串联质谱法同时测定茶叶中烟酰胺腺嘌呤二核苷酸及其 4 种前体化合物含量[J]. 茶叶科学, 2023, 43(2): 216-226.
- QIU S T, HOU X, LEI S R, et al. Simultaneous determination of nicotinamide adenine dinucleotide and its four precursors in tea by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Journal of Tea Science, 2023, 43(2): 216-226.