

基于组学技术探究小米粥中酚类化合物的组成并分析其抗氧化水平

康子悦¹, 沈 蒙¹, 葛云飞¹, 王 娟¹, 全志刚¹, 肖金玲¹, 王维浩^{1,2}, 曹龙奎^{1,2*}

(1.黑龙江八一农垦大学食品学院, 黑龙江 大庆 163319; 2.国家杂粮工程技术研究中心, 黑龙江 大庆 163319)

摘

要:以产自山西的东方亮小米为实验材料,探究煮制前后小米中酚类化合物的变化差异。通过正交试验优化煮制工艺,提取酚类化合物并测定抗氧化水平,使用植物广靶代谢组学的方法测定小米及小米粥中酚类化合物的组成。结果表明,煮制时间15 min、煮制功率700 w、料液比1:25为煮制的最优参数组合;与生小米相比,小米粥游离酚和结合酚的含量分别减少了53%和10%;小米粥游离酚和结合酚清除DPPH能力分别为75.41%和56.54%,总抗氧化能力分别为14.72 U/mL和9.58 U/mL;通过超高效液相色谱-质谱联用仪定性出37种多酚类化合物,筛选出19个差异组分,并通过KEGG富集分析得到10个代谢通路。煮制后游离酚和结合酚均发生变化,其中结合酚相对稳定,说明其在体内可能发挥更重要的作用。

关键词:小米、小米粥、多酚类化合物、抗氧化性、代谢组学

Exploring the composition of phenolic compounds in millet porridge based on omics technology and analyzing antioxidant level

KANG Ziyue¹, SHEN Meng¹, GE Yunfei¹, WANG Juan¹, QUAN Zhigang¹, XIAO Jinling¹, WANG Weihao^{1,2}, CAO Longkui^{1,2*}

(1. College of Food Science, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China; 2. National Cereals Engineering Technology Research Center, Daqing 163319, China)

Abstract: Using Dongfanliang millet from Shanxi as experimental material, the changes of phenolic compounds in millet before and after cooking were studied. The boiling process was optimized by orthogonal test. Phenolic compounds were extracted and antioxidant levels were determined. Phenolic compounds in millet and millet porridge were determined by plant broad-target metabolomics. The results showed that the optimal parameters were as follows: cooking time 15 min, cooking power 700 w, ratio of material to liquid 1:25; Compared with raw millet, the content of free phenol and bound phenol in millet porridge decreased by 53% and 10% respectively; The DPPH scavenging activities of free and conjugated phenols were 75.41% and 56.54%, and the total antioxidant activities were 14.72 U/mL and 9.58 U/mL, respectively; Thirty-seven polyphenols were identified by ultra performance liquid chromatography-mass spectrometry (UPLC-MS). Nineteen metabolites were screened and 10 metabolic pathways were identified by KEGG enrichment analysis. After cooked, free phenol and bound phenol changed, and bound phenol was relatively stable, indicating that it may play a more important role in the body.

Key words: millet, millet porridge, polyphenols, antioxidant, metabolomics¹

中图分类号: TS201.1 文献标志码: A

基金项目: 国家重点研发计划“杂粮活性组分在加工过程中的调控与活性保持技术与应用”(编号: 2017YFD0401203); 黑龙江八一农垦大学研究生创新科研项目(编号: YJSCX2018-Y57)

第一作者简介: 康子悦(1994—)(ORCID: 0000-0002-3109-4340), 女, 硕士研究生, 研究方向为杂粮活性成分。E-mail: kang_ziyue@163.com

*通信作者简介: 曹龙奎(1965—)(ORCID: 0000-0002-1842-5854), 男, 教授, 博士, 研究方向为农产品加工。E-mail: caolongkui2013@163.com

DOI: 10.7506/spkx1002-6630-20190813-145

小米 (*Setaria italica*

Beauv.), 原名粟, 在世界谷物产量中排名第六, 我国黄河中上游为主要栽培区^[1]。《本草纲目》中记载, 小米“治反胃热痢, 煮粥食, 益丹田, 补虚损, 开肠胃”。中医亦讲小米“和胃温中”, 认为小米粥具有清热解渴、健胃除湿、补虚损和健胃消食等功效。多酚类化合物具有抗氧化、抗肿瘤、延缓衰老、预防或减少疾病的发生等作用, 是最广泛的膳食补充剂之一。多酚类化合物是小米中最主要的功能性成分之一, 同样具有上述功能特性^[2]

^{3]}。小米中含有游离和共轭形式的酚酸, 包括羟基苯甲酸和羟基肉桂酸的衍生物; 还含有黄酮类化合物, 包括黄酮, 黄烷酮、异黄酮等。此外, 部分小米中还含有少量的单宁类物质^[4]

^{5]}。小米粥作为家庭常吃的一种粥品, 具有开肠胃、反胃热痢、健胃消食等养胃功能。而多酚类化合物作为一种功能因子存在于小米粥中, 不仅具有抗氧化、抗肿瘤等作用, 还具有修复胃黏膜损伤、提高胃肠动力和预防胃肠道疾病等功能, 因此酚类化合物是小米粥养胃的重要功能因子之一。

现阶段, 对于小米和小米粥中酚类化合物的研究并不系统, 还停留在提取工艺、抗氧化能力测定及加工对总酚或几种酚类物质的影响。魏春红^[6]等人采用酶法辅助提取小米多酚, 结果表明液料比14:1, 双酶添加量0.9%, 酶解时间2 h, 酶解温度40

℃为最佳提取工艺。延莎^[7]等人测定不同米色的小米多酚类化合物的抗氧化能力, 结果表明晋谷21抗氧化能力最强。张玲艳^[8]等人探究蒸煮对小米多酚及抗氧化活性的影响, 结果表明煮小米中总酚的保留率较高。Geetha^[9]等人采用酶法-

超声法协同萃取小米糠中多酚类化合物, 该方法的提取率是常规法的两倍, 且抗氧化能力也随之提高。Hithamani^[10]等人提取的小米多酚总量为10.2mg/g, 发芽或压力蒸煮后多酚含量下降了50%, 而开锅蒸煮后其多酚含量仅下降12-

19%。Taylor^[11]及团队分析了脱皮、蒸煮、发芽后小米中多酚类化合物的变化, 结果表明食品加工会降低多酚类化合物的含量。其中热处理的影响是复杂的, 因为可能会发生结合酚的释放和多酚的解聚。小米经过煮制后其酚类化合物含量和抗氧化能力变化的趋势、哪些多酚类化合物仍然能保持高含量、哪些多酚类化合物在体内起到重要的作用等问题鲜有报道, 而这些待解决的问题可为探究小米粥中多酚类化合物养胃机制提供重要的理论依据。同时, 大多数研究都是针对小米总酚进行的, 而不是针对食品本身, 致使缺乏活性成分对健康的直接证据。因此, 对小米粥中多酚类化合物进行系统性分析是十分有意义的。本实验采用定性准确、灵敏度高、重复性好的植物广靶代谢组技术探究小米粥中酚类化合物的组成, 并分析差异组分, 意为人们提供简便且更为合理的小米粥煮制方式, 更为进一步探究小米粥中酚类化合物养胃机制提供理论依据, 同时也为开发功能性食品提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

小米 (品种为东方亮, 产地为山西省, 粒径均匀, 颜色金黄, 有光泽, 无霉烂碎米), 市售; 石油醚、丙酮、乙酸乙酯均属于分析纯级别, 购于天津市大茂化学试剂厂; 没食子酸 (标准品)、无水碳酸钠、福林酚均购于上海市麦克林生化科技有限公司; 总抗氧化试剂盒购于南京建成生物工程研究所; 1-二苯基-2-

苦基肼自由基购于梯希爱 (上海) 化学工业发展有限公司; 甲醇和乙腈均购于Honeywell公司; 甲酸购于Sigma公司。

1.2 仪器与设备

MJ-10A 高速万能粉碎机、Specord 210 plus

紫外可见分光光度计、梅特勒DSC1型差示扫描量热仪、超声波药物处理机、1290超高效液相色谱、

Triple TOF 6600高分辨质谱、Agilent 6490 Series 三重四极杆质谱、ACQUITY UPLC HSS T3 18m2.1×100mm色谱柱。

1.3 实验方法

1.3.1 小米粥最佳煮制工艺的优化

1.3.1.1 单因素试验设计

以小米粥总酚含量为评价指标进行三因素四水平的单因素试验，料液比：1:20、1:25、1:30、1:35；煮制时间：15 min、18 min、21 min、24 min；煮制功率：500 w、700 w、900 w、1100 w，以此优化小米粥煮制工艺。

1.3.1.2 正交试验设计

在单因素试验的基础上，设计三因素四水平正交试验，确定小米粥最佳煮制工艺参数，因素水平表见表1。

表1 小米粥煮制工艺正交因素水平表
Table 1 Millet porridge cooking process orthogonal factor level table

水平	因素		
	A煮制时间 (min)	B料液比	C煮制功率 (w)
1	15	1:20	500
2	18	1:25	700
3	21	1:30	900
4	24	1:35	1100

1.3.1.3 小米粥淀粉糊化度的测定

取一粒煮后的小米粥，平铺于坩埚底部，擦拭坩埚边缘。盖上坩埚盖密封，并采用压样器对坩埚进行压制，保证坩埚不偏且密封良好。于4℃冰箱中静置12 h后放入DSC测试仪中。取5 mg生小米粉加入7 μL去离子水，平铺于坩埚底部，其余操作同上。DSC测定参数：氮气流量为150 mL/min；压力为0.1 Mpa；升温速率为5℃/min；从20℃升温至100℃，利用电脑程序记录DSC曲线，并进行对比分析^[12]。

1.3.1.4 小米粥品质的感官评定

取一定质量的小米粥成品，由10名专业人员组成评定小组，分别从小米粥的香味、口感、色泽、籽粒体态、米汤组织形态五个方面进行感官评价，10名评定人员评定结果的平均值为最终评定结果，评分标准如表2所示^[13]。

表2 小米粥感官评定表
Table 2 Millet porridge sensory evaluation form

项目	满分	评分标准
香味	30分	有浓郁的香味，无不良苦涩感（24-30分）；香味清淡，无不良苦涩感（12-23分）；无香味，甚至出现苦涩感（0-11分）
口感	30分	嚼脆度较好（24-30分）；有一定脆度带有软绵感（12-23分）；无脆度口感发软（0-11分）
色泽	20分	色泽自然（12-20分）；色泽泛黑或泛白（9-11分）；色泽发黑或发白（0-8分）
籽粒体态	10分	体态自然完整（6-10分）；有轻微变形、破损（3-5分）；严重变形，破损程度较高（0-2分）
米汤组织形态	10分	米汤浊度合适，米汤粘稠度合适（6-10分）；米汤有一定浊度，米汤有一定粘稠度（3-5分）；米汤过于浊度，米汤过粘或过稀（0-2分）
总分	100分	

1.3.2 小米粥总酚的提取

小米粥冷冻干燥后使用粉碎机粉碎。称取2 g原料加入25 mL 70%乙醇超声提取25 min后离心（4000 r/min）10 min。提取两次后合并上清液，用于测定总酚含量。

1.3.3 小米和小米粥游离酚的提取

采用Anomm和Irakli等人^[14-15]的方法稍作修改，小米粥冷冻干燥后使用万能粉碎机粉碎。称取2 g原料加入25 mL 70%丙酮，超声提取25 min后离心（4000 r/min）10 min。提取两次后合并上清液，冷藏备用。残渣用于结合酚的提取。小米采用同样的方法

提取游离酚作为对照试验。

1.3.4 小米和小米粥结合酚的提取

采用Anomm和Irakli等人^[14-15]的方法稍作修改, 向上述风干的样品中加入20 mL 4 mol/L NaOH, 避光水解4 h后用浓盐酸将pH调节至2.0。4000 r/min离心10 min。加入25 mL正己烷去酯两次后加入25 mL乙酸乙酯充分混合, 提取两次后合并上层提取液, 冷藏备用。小米采用同样的方法提取结合酚作为对照试验。

1.3.5 酚类化合物含量的测定

1.3.5.1 标准曲线的制作

采用Folin-Ciocalteu法^[16]。称取10 mg没食子酸标准品, 蒸馏水定容至100 mL, 配成0.1 mg/mL没食子酸标准溶液。吸取0.0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0 mL没食子酸标准溶液, 加入1 mL福林酚试剂, 混匀后避光静置2 min。加入2 mL 12% Na₂CO₃溶液, 定容至100 mL。避光静置2 h后于波长760 nm处测定吸光度值, 制做三组平行。以没食子酸含量为横坐标, 吸光度值为纵坐标, 绘制标准曲线。

1.3.5.2 酚类化合物含量的测定

1 mL提取液置于100 mL容量瓶中, 加入1 mL福林酚试剂, 摇匀后避光静置2 min。加入2 mL 12%的Na₂CO₃溶液, 蒸馏水定容至刻度。避光静置2 h后, 于波长760 nm处测定吸光度, 制做三组平行。利用标准曲线计算浓度(μg·mL⁻¹, 以没食子酸计), 含量按照下列公式计算^[17]。

$$M = \frac{C \times V \times N \times 10^{-3}}{m}$$

式中, M -多酚含量(mg/g); C -没食子酸浓度(μg/mL); V -定容后体积(mL); N -稀释浓度; m -样品质量(g)。

1.3.6 小米粥中游离酚和结合酚抗氧化能力检测

1.3.6.1 总抗氧化能力检测

采用总抗氧化能力(T-AOC)试剂盒测定。按照说明书进行实验, 重复3次。于波长520 nm处测定吸光度值, 按下面公式进行计算^[17,18]。

$$T = (OD_{\text{测量}} - OD_{\text{对照}}) \div 0.03 \div 30 \frac{V_{\text{反}}}{V_{\text{取}}} \times A$$

式中: T -总抗氧化能力(U/mL); $OD_{\text{测量}}$ -样品管中待测样品吸光度值; $OD_{\text{对照}}$ -对照管中待测样品吸光度值; $V_{\text{反}}$ -反应液总体积(mL); $V_{\text{取}}$ -样品取样量(mL); A -样品测试前稀释倍数。

1.3.6.2 DPPH清除自由基能力检测

准确称取DPPH标准品10 mg, 无水乙醇定容至250 mL。样品管中加入3 mL提取液和3 mL DPPH标准溶液; 本底管中加入3 mL提取液、3 mL DPPH标准溶液和3 mL无水乙醇; 空白管中加入3 mL DPPH标准溶液和3 mL无水乙醇, 制做三组平行。静置70 min后于510 nm处测量吸光度值, 按下面公式进行计算^[17,18]。

$$S(\%) = \frac{A_0 - (A_i - A_j)}{A_0} \times 100$$

式中: S -DPPH清除率(%); A_i -样品吸光值; A_j -本底吸光值; A_0 -空白吸光值。

1.3.7 小米粥中游离酚和结合酚组分的鉴定

吸取6 mL提取液，氮气吹干后加入300 μ L甲醇溶剂复溶。将混合样品（QC）和样品（小米游离酚、小米粥游离酚、小米结合酚、小米粥结合酚）置于4 $^{\circ}$ C、13000 r/min条件下离心15 min。取上清液于进样瓶中。通过超高效液相色谱-质谱联用仪进行检测分析^[19-21]。

分析平台：Agilent液相色谱自动进样器。色谱柱：HSS T3色谱柱(1.8 μ m, 2.1 \times 100 mm)。色谱条件：流动相A:0.1%甲酸、流动相B:100%乙腈，梯度洗脱条件为0 min, 98A/2B; 0-10 min, 40A/60B; 10-12 min, 2A/98B; 12-13 min, 2A/98B; 13-13.1 min, 98A/2B; 13.1-14 min, 98A/2B; 14-15 min, 98A/2B, 流速400 μ L/min, 柱温25 $^{\circ}$ C, 进样量2 μ L。质谱条件：进样口温度650 $^{\circ}$ C; 离子源温度650 $^{\circ}$ C; 检测范围5-1250。

1.3.8 数据分析

煮制工艺、酚类化合物含量及抗氧化水平测定使用Excel 2010进行分析，每组数据进行3个平行试验，取其平均值并计算相对标准偏差，用SPSS软件进行方差分析。利用MAPS软件进行数据分析，并对数据进行总峰面积归一化处理。使用MEV4.9.0软件绘制差异组多层次聚类分析热力图。使用R语言进行KEGG富集分析并绘制代谢差异图。

2 结果与分析

2.1 小米粥煮制工艺的优化

2.1.1 酚类化合物含量标准曲线

酚类化合物含量测定标准曲线线性回归方程为 $y = 0.0813x + 0.0058$, $R^2 = 0.9984$, 具有较好的线性关系。

2.1.2 煮制时间对小米粥总酚含量影响

图2为双坐标轴，左侧纵坐标为生小米中多酚含量，右侧纵坐标为小米粥多酚含量。图中，“*”、“#”代表 $p < 0.05$ ；“**”、“##”代表 $p < 0.01$ ；“***”、“###”代表 $p < 0.001$ 。星号代表小米粥与生小米间的对比；井号代表小米粥各因素间的比较。与生小米对比，随着煮制时间的增加，小米粥总酚的含量逐渐下降，且呈显著性差异（ $p < 0.001$ ）。小米粥各因素间也存在差异性，其中煮制15 min和煮制24 min呈现极显著差异。当煮制时间为15 min时小米粥总酚的含量最高。这是由于多酚类化合物是一种热不稳定性的物质，随着加热时间的延长，总酚被氧化破坏或降解，导致其含量下降。这与Aguilera^[22]等人研究结果相符。

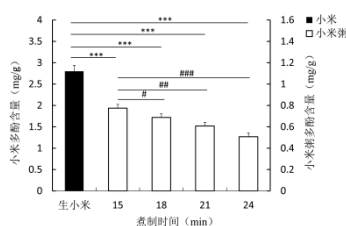


图1 煮制时间对小米粥总酚含量的影响

Fig. 1 Effect of cooking time on total phenolic content of millet porridge

2.1.3 煮制功率对小米粥总酚含量影响

由图3所示，与生小米相比，随着煮制功率的增加，小米粥总酚的含量逐渐下降，且呈显著性差异（ $p < 0.001$ ）。当功率为500 w时小米粥总酚的含量最高。其中，煮制功率500 w和1100 w这两个因素之间呈极显著差异。这是由于多酚类化合物热稳定差，随着功率的增加，温度也逐渐升高，导致总酚含量下降。这与Gujral^[23]等人的研究结果相似。

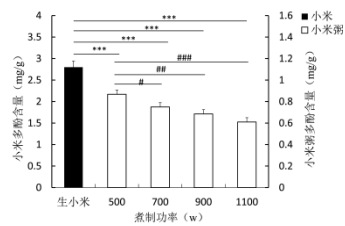


图2 煮制功率对小米粥总酚含量的影响

Fig. 2 Effect of cooking power on total phenolic content of millet porridge

2.1.4 料液比对小米粥总酚含量影响

由图4所示，与生小米相比，随着料液比的增加，小米粥总酚的含量呈先上升后下降的趋势。当料液比为1:25时小米粥多酚的含量最高。可能是由于料液比为1:25时小米保持良好的含水量，提高总酚的提取率。当料液比大于1:25时，游离态多酚溶出，加热后总酚被破坏，导致其含量下降。

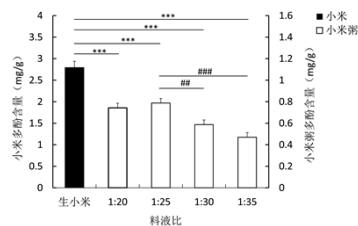


图3 料液比对小米粥总酚含量的影响

Fig. 3 Effect of liquid-liquid ratio on total phenolic content in millet porridge

2.1.5 煮制工艺优化正交试验

表3 煮制工艺优化正交试验

Table 3 Cooking process optimization orthogonal test

试验号	A时间 (min)	B料液比	C功率 (W)	D空列	E空列	总酚含量 (mg/g)
1	1	1	1	1	1	0.807
2	1	2	2	2	2	1.242
3	1	3	3	3	3	1.064
4	1	4	4	4	4	0.901
5	2	1	2	3	4	1.062
6	2	2	1	4	3	0.991
7	2	3	4	1	2	0.894
8	2	4	3	2	1	0.848
9	3	1	3	4	2	1.093
10	3	2	4	3	1	1.127
11	3	3	1	2	4	0.715
12	3	4	2	1	3	1.043
13	4	1	4	2	3	0.974
14	4	2	3	1	4	1.099
15	4	3	2	4	1	1.006
16	4	4	1	3	2	0.760
K1	3.994	3.922	3.261			
K2	3.788	4.447	4.34			
K3	3.977	3.677	4.112			
K4	3.839	3.551	3.892			

k1	0.998	0.981	0.815
k2	0.947	1.112	1.085
k3	0.994	0.919	1.026
k4	0.959	0.888	0.973
R	0.2057	0.8959	1.0787

表4 传统煮制萃取方差分析表
Table 4 Traditional cooking extraction variance analysis table

变异来源	ss	Df	MS	F	P	显著性
A（时间）	0.008	3	0.003	0.553	0.665	
B（料液比）	0.118	3	0.039	8.399	0.014	**
C（功率）	0.161	3	0.054	11.467	0.007	***
误差	0.028	6	0.005			
总计	15.53	16				

根据极差R的大小，判断因素的主次顺序是A<B<C。由表2可知，试验的最优结果为A₁B₂C₂，即时间15 min，料液比1:25，功率700 w。由表3可知，B、C的P值均小于0.05，说明B、C对小米粥多酚含量影响显著。将最优组合进行验证，测得小米粥多酚含量平均值得1.25 mg/g，与单因素相比其损失率降低了25%。

2.1.6 小米粥淀粉糊化度的测定

图4中1号曲线代表生小米，2号曲线代表正交试验中试验1号的小米粥。试验1号的煮制时间最短、煮制功率最低，若在此参数下小米粥中淀粉完全糊化，则可断定在其他参数下煮制的小米粥也完全熟制。淀粉糊化过程代表了淀粉分子从有序到无序状态的转变，同时也伴随着能量的变化，因此可用DSC对淀粉的糊化特性及糊化程度进行测定。当小米粥中淀粉完全糊化时，DSC在分析过程中应没有吸收峰，呈一条平坦的直线^[13]。由图4可知，生小米出现了明显的吸热峰，表明其中含有大量的淀粉晶体，并未完全糊化。图中2号曲线没有出现吸收峰，表明小米粥已完全熟制。。

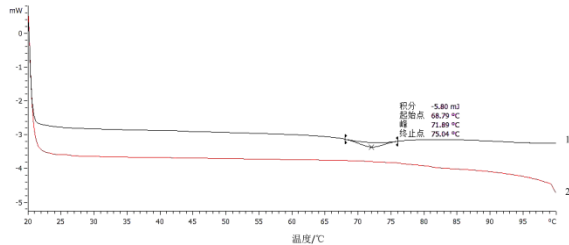


图4 小米及小米粥的DSC曲线

Fig. 4 DSC curve of millet and millet porridge

2.17 小米粥品质的感官评定

根据表2制订的感官评定标，对表3中16个试验组进行感官评价，评价结果如表5所示。

表5 小米粥感官评定表

Table 5 Millet porridge sensory evaluation form

试验号	感官评定结果					
	香味	口感	色泽	籽粒形态	米汤组织形态	总分均值
1	26	25	18	8	6	83
2	28	27	18	9	8	90
3	26	28	18	8	7	87
4	25	25	17	6	6	79
5	28	28	18	8	6	88
6	27	27	18	7	6	85
7	26	24	17	7	6	80
8	25	25	17	7	6	80
9	26	25	17	5	5	78
10	26	24	17	6	5	78
11	28	28	18	8	8	90
12	26	27	18	8	6	85

13	24	24	16	5	5	74
14	25	25	18	8	6	82
15	29	28	19	8	9	93
16	24	24	17	7	5	77

由表5可知，试验15组感官评定的结果最佳，其次为试验2组和试验11组。感官评定的结果表明，当料液比过高时，小米粥的香味呈下降趋势；当煮制功率过高时，其口感呈下降趋势；从表中数据不难得出，烹饪小米粥时，煮制功率不易过大，于此同时煮制时间可以略微延长，也就是人们常说的“小火慢熬”，在此条件下，小米粥的风味物质不仅可以较好的溶出，且米粒的口感软硬适中。结合表3中多酚含量，选取试验2组为最佳煮制工艺，也将采用试验2组的煮制工艺参数进行后续试验。

2.2 小米粥游离酚和结合酚的测定

由图5可知，小米粥中游离酚损失率较高，差异显著（ $p<0.001$ ），结合酚含量变化不显著。小米粥中游离酚和结合酚含量分别减少了53%和10%，这是由于游离酚不与大分子物质结合，结构不稳定，而结合酚通过碳碳双键、酯键或与细胞壁中木聚糖侧链上一些糖残基、结构蛋白、纤维素和果胶等大分子结合，结构稳定，不易被破坏，所以游离酚损失率高于结合酚，这与Chandrasekara等人^[24]的研究结果一致。食物中的结合酚在胃和小肠进行消化，再由结肠中微生物菌群发酵后释放，所以结合酚在体内发挥着重要的作用^[25]。小米粥中结合酚含量下降不显著，说明小米经过煮制后结合酚在体内仍起到不可或缺的作用。

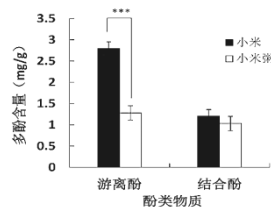


图5 小米粥游离酚和结合酚含量

Fig. 5 Millet porridge free phenol and bound phenol content

2.3 小米粥中游离酚和结合酚抗氧化能力的测定

与小米游离酚相比，小米粥游离酚清除DPPH能力下降了2.2%，总抗氧化能力下降了1.91 U/mL。与小米结合酚相比，小米粥结合酚清除DPPH能力下降了9.69%，总抗氧化能力下降了3.06 U/mL。Devi^[5]等人报道表明，小米清除DPPH能力大约为70%左右，与本试验得到的结果吻合。本试验使用的东方亮小米其结合酚的抗氧化能力低于游离酚的抗氧化能力。Kumari^[26]等人的研究表明，不同品种的小米，其游离酚和结合酚的抗氧化能力存在差异，例如：印度finger小米其结合酚的抗氧化能力低于游离酚。Devi^[5]等人报道同样证明结合酚的抗氧化能力低于游离酚，与本试验的结果相同。小米粥中游离酚抗氧化能力变化不显著的原因可能是热处理引发的美拉德反应会导致新的物质形成，具有还原性和释放结合酚的能力，这也是小米粥结合酚抗氧化能力下降的原因。程安玮^[27]等人研究了豇豆、红小豆、绿豆和蚕豆4种豆类中酚类化合物的抗氧化能力，小米和小米粥中多酚类化合物的抗氧化能力均高于这4种豆类。尽管煮制后小米粥中多酚类化合物含量下降，但其抗氧化能力仍维持较高的水平，说明多酚类化合物在体内发挥着不可或缺的作用。

表4 小米粥中游离酚和结合酚抗氧化能力

Table. 4 Free phenol and combined phenol antioxidant capacity in millet porridge

	小米游离酚	小米粥游离酚	小米结合酚	小米粥结合酚
清除DPPH能力（%）	77.67±0.13	75.41±0.15	66.23±0.13	56.54±0.16
总抗氧化能力（U/mL）	16.63±0.16	14.72±0.12	12.64±0.13	9.58±0.15

2.4 主成分分析

图6为小米与小米粥主成分分析散点图。由图可知，QC样本重合度较高，说明试验方法稳定性强、数据质量高。置信区间的右上角为小米多酚样本，左下角为小米粥多酚样本，说明小米经过煮

制后样本之间存在显著差异。

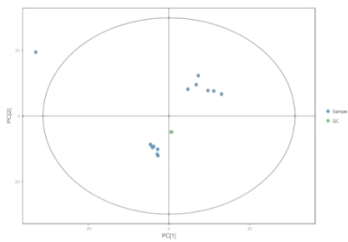


图6 小米与小米粥PCA得分散点图

Fig. 6 Millet and millet porridge PCA has to be scattered point map

2.5 小米粥中游离酚和结合酚组分鉴定

本试验定性出37种多酚类化合物，包含24种黄酮类化合物，其中7种为异黄酮类化合物以及3种2-芳基苯并呋喃类黄酮类化合物；13种酚酸类化合物，其中4种为肉桂酸及其衍生物，具体信息见表5，这与Shahidi^[4]等人叙述的小米中酚类化合物的组成结果相似，但本试验更系统的定性出小米及小米粥的组成成分。P值小于0.05表明煮制后酚类化合物的含量存在显著性差异，鼠曲草黄素、表儿茶素、光甘草素、Peonidin 3-O-glucoside、金圣草黄素、芥子醇、香草酸、咖啡酸、丁香酸、间香豆酸、3,4,5-Trimethoxy-cinnamic acid、芥子酸、大豆苷元、黄豆黄素、金雀异黄素、异黄樟素、胡椒醛、Delphinidin-3-rutinoside和锦葵色素苷的含量均呈显著性差异。

表5 小米与小米粥中游离酚和结合酚组成成分
Table. 5 Free phenol and combined phenolic constituents in millet and millet porridge

序号	物质名称	保留时间	质核比	小米游离酚相对含量	小米粥游离酚相对含量	P值	小米结合酚相对含量	小米粥结合酚相对含量	P值
1	Synephrine（辛弗林）	1.07	168.1	0.00428335	0.00450545	0.39	0.00009881	0.00027476	0.266
2	Diosmin（香叶木苷）	2.4	609.2	0.00034435	0.00008822	0.19	0.00020054	0.00007456	0.347
3	Gnaphaliin（鼠曲草黄素）	2.61	315.1	0.000005676	0.00000405	0.033	0.00000254	0.00000218	0.818
4	Chalcomoracin	3.08	649.25	0.000489318	0.00046555	0.816	0.00000238	0.00000390	0.630
5	Epicatechin（表儿茶素）	3.34	291.08	0.006244473	0.00452655	0.001	0.00004256	0.00009984	0.252
6	Chlorogenic acid（绿原酸）	3.71	355.1	0.000031945	0.00004370	0.600	0.00022200	0.00009648	0.099
7	Cyclomulberin（环桑皮黄素）	3.83	421.18	0.000047039	0.00004266	0.375	0.00012523	0.00011788	0.762
8	Sinapyl alcohol（芥子醇）	4.01	193.08	0.000017619	0.00003089	0.002	0.00000141	0.00000407	0.133
9	Vanillic acid（香草酸）	4.13	169.05	0.000090452	0.00012405	0.003	0.00046705	0.00051383	0.668
10	Caffeic Acid（咖啡酸）	4.15	181.05	0.000013786	0.00002258	0.002	0.00040829	0.00042583	0.879
11	Syringic acid（丁香酸）	4.27	199.06	0.000039504	0.00004909	0.020	0.00020432	0.00039882	0.083
12	Licoagrodin	4.4	729.29	0.000054998	0.00005174	0.369	0.00000058	0.00000100	0.591
13	Delphinidin-3-rutinoside	4.46	611.15	0.000590225	0.00085328	0.009	0.00000983	0.00003101	0.184
14	Orientin（荭草素）	4.66	449.1	0.000031627	0.00003808	0.316	0.00001910	0.00001134	0.305
15	Mulberrofurane E	4.66	633.27	0.000016054	0.00000983	0.109	0.00000019	0.00000203	0.294
16	3,4,5-Trimethoxycinnamic acid	4.76	239.08	0.000032076	0.00005863	0.001	0.00000344	0.00000369	0.851

时间：		食品科学						网络首发		
17	Rutin（芦丁）	4.92	611.16	0.000001654	0.00012031	0.001	0.00000922	0.00000660	0.475	
18	Vanillin（香兰素）	4.94	153.05	0.000159381	0.00054139	0.001	0.00213471	0.00122761	0.019	
19	m-Coumaric acid （间香豆酸）	4.96	165.05	0.000335639	0.00051344	0.001	0.01003330	0.00772751	0.323	
20	Sinapic acid（芥子酸）	5.25	225.07	0.000000205	0.00000072	0.005	0.00000436	0.00000959	0.020	
21	Glabrene（光甘草素）	5.31	323.13	0.000000427	0.00000113	0.045	0.00013196	0.00011218	0.474	
22	Chrysanthemin（紫菀苷）	5.35	447.09	0.000003409	0.00000322	0.865	0.00000941	0.00000487	0.300	
23	Malvin（锦葵色素苷）	5.61	655.18	0.000010366	0.00002178	0.001	0.00000331	0.00000705	0.407	
24	Peonidin 3-O-glucoside	5.79	463.12	0.000071083	0.00014594	0.001	0.00005826	0.00004602	0.261	
25	Anigorootin	6.07	575.13	0.000010042	0.00000870	0.245	0.00000029	0.00000061	0.084	
26	Nobiletin（川陈皮素）	6.19	403.16	0.000005791	0.00000564	0.898	0.00001817	0.00001417	0.176	
27	Daidzein（大豆苷元）	6.7	255.06	0.000002411	0.00000745	0.004	0.00000927	0.00059654	0.028	
28	Glycitein（黄豆黄素）	6.86	285.07	0.000001019	0.00000358	0.004	0.00000369	0.00021470	0.031	
29	Yuccaol C	7.03	543.12	0.000000070	0.00000007	0.986	0.00000317	0.00000315	0.950	
30	Apiin（芹菜甙）	7.76	565.16	0.000000123	0.00000038	0.067	0.00000739	0.00000399	0.116	
31	Genistein（金雀异黄素）	7.84	271.06	0.000002499	0.00000282	0.397	0.00000544	0.00023374	0.004	
32	Tricin（麦黄酮）	7.94	331.08	0.000661418	0.00072229	0.365	0.00011027	0.00010230	0.662	
33	Chrysoeriol（金圣草黄素）	8.02	301.07	0.000182597	0.00020415	0.068	0.00002507	0.00004715	0.006	
34	Isosafrole（异黄樟素）	12.3	163.07	0.000950823	0.00216627	0.010	0.00136475	0.00276289	0.231	
35	Piperonal（胡椒醛）	12.5	151.03	0.000239287	0.00036153	0.021	0.00262095	0.00220449	0.078	
36	(-)-Glycinol	12.6	273.09	0.000000868	0.00000090	0.932	0.00000428	0.00000268	0.090	
37	Formononetin（芒柄花素）	12.8	269.09	0.000002825	0.00000567	0.082	0.00000926	0.00004024	0.064	

表儿茶素、香兰素、绿原酸、香草酸、芥子酸和芥子醇等酚类化合物相对含量较高，这与Hitha mani^[28]等人的研究结果吻合。表儿茶素、绿原酸、芥子酸和香草酸为小米中主要的游离酚；而咖啡酸、香豆酸为小米中主要的结合酚，Shahidi^[4]等人的研究得到同样的结果。香叶木苷、表儿茶素、川陈皮素等游离酚相对含量呈下降趋势^[29]，其原因可能是在煮制过程中部分游离酚被氧化，其次热处理后酚类物质因降解等原因可能会进入胚乳，与蛋白质等大分子形成复合物，从而使游离酚含量下降。有研究表明^[30]，表儿茶素可修复由幽门螺旋杆菌诱导的胃粘膜损伤。绿原酸、Tricin、间香豆酸等游离酚的相对含量呈上升趋势^[31,32]。其原因可能是热处理破坏了结合酚的化学结构，促使结合酚转变成游离酚，提高了游离酚的含量，研究表明^[33]，绿原酸可以阻遏，阻止胃肠病变，从而保护肠道。荭草素、芦丁、香兰素等结合酚含量下降，出现这种趋势的原因可能是由于热处理破坏了包裹结合酚的酯键、碳碳双键等化学结构，或促使细胞壁组成中部分果胶或蛋白被溶解，从而释放食物基质中结合酚并促使其溶出，导致结合酚含量减少。研究表明^[34]，芦丁对胃和十二指肠溃疡的小鼠具有细胞保护和胃保护作用，芦丁还对乙醇相关的胃粘膜溃疡的修复起到重要作用。表儿茶素、芥子醇、咖啡酸、丁香酸、大豆苷元等结合酚的相对含量呈上升趋势，表明适当热处理会产生美拉德反应，可能会生成新的物质；其次，适当的热处理促使结合酚的半溶出，提高提取效率^[35]。咖啡酸对胃肠炎病毒具有抑制作用，许多益胃、养胃的胶囊或冲剂中均含有咖啡酸。异黄樟素、金圣草黄素、大豆苷元、Malvin、香兰素、咖啡酸、香草酸等酚类化合物中游离酚和结合酚均呈上升趋势，其原因可能是煮制后部分可溶性结合酚游暴露，且适当的煮制和浸泡可以提高多酚的提取效率，致使其含量增加。川陈皮素、Licoagrodin、环桑皮黄素和辛弗林等酚类化合物差异不显著，表明其

热稳定性强于其他酚类化合物，其原因可能是此类化合物中含有苯环以及碳碳双键等稳定的化学结构。其次，苯酚上的羟基与多糖上的氧原子间会形成氢键，这种相互作用可以形成葡聚糖凝胶，可以提高多酚类化合物的稳定性。综上所述，煮制后部分多酚类化合物的含量呈现出显著性的差异，并且许多酚类化合物都具有养胃的功效。

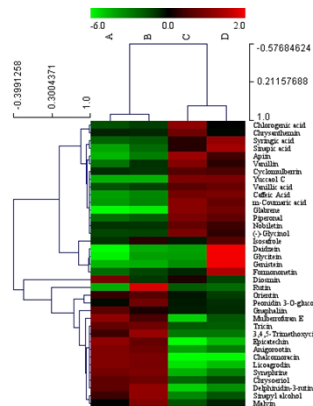


图7 小米与小米粥差异组分层次聚类分析热力图

Fig. 7 Millet and millet porridge difference component hierarchical clustering analysis heat map

图7为小米与小米粥差异组分层次聚类分析热力图，横坐标A、B、C、D分别代表小米游离酚、小米粥游离酚、小米结合酚和小米粥结合酚；纵坐标为多酚类化合物的名称。将差异组分的相对含量进行聚类，高低表达交互在一起，红色为高表达组分，绿色为低表达组分。表儿茶素、间香豆酸、辛弗林、咖啡酸、丁香酸等酚类化合物为高表达；Yuccaol C、芹菜甙、芒柄花素和(-)-Glycinol等为低表达；根据颜色变化差异得出绿原酸、紫菀苷、丁香酸、芥子酸、香木叶苷、芦丁、Peonidin 3-O-glucoside、大豆苷元、黄豆黄素、金雀异黄素和鼠曲草黄素等物质存在极显著差异；香兰素、表儿茶素、香草酸、咖啡酸、间香豆酸等差异显著，这与表5结果相似。通过颜色深浅差异可知，游离酚变化差异大于结合酚，这表明小米经过煮制后游离酚含量变化显著，这也与图5结果相似。其中最显著的游离酚为芦丁、香木叶苷、Peonidin 3-O-glucoside、鼠曲草黄素和锦葵色等。

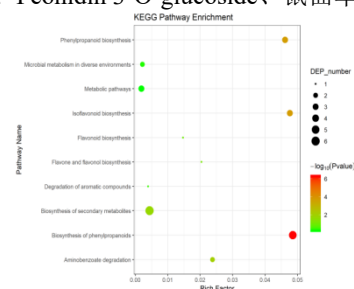


图8 小米粥差异组分代谢通路影响因子图

Fig. 8 Millet porridge difference component pathway influence factor map

由图5及表5可以得出，煮制后小米籽粒中部分酚类化合物含量呈下降趋势。有研究表明^[36]，小米贮藏过程中若存在温度过高的现象，其籽粒中多酚类化合物的含量会相应减少。酚类化合物性质不是很稳定，当环境温度升高时，酚类化合物极易分解，所以本文针对小米在生熟两种状态下的差异组分进行KEGG富集分析，分析高温环境对小米中酚类化合物代谢通路的影响，以便为小米贮藏环境的选择提供参考。代谢通路富集分析结果以气泡图的形式展现，见图8。图中每一个气泡代表一条代谢通路，共有10个气泡，即在KEGG中查询到了10个代谢通路，既有合成途径也有降解途径，分别为苯丙素的生物合成途径、异黄酮生物合成途径、苯丙烷类生物合成途径、氨基苯甲酸盐降解途径、次生代谢物的生物合成途径、黄酮和黄酮醇的生物合成、类黄酮生物合成、芳香化合物的降解、不同环境中的微生物代谢途径及新陈代谢途径。气泡所在横坐标和气泡大小表示该通路在拓扑

分析中的影响因子大小，纵坐标和气泡颜色表示富集分析的P值（取负常用对数，即- \log_{10} P-value），颜色越深P值越小，富集程度越显著。其中苯丙素的生物合成途径、异黄酮生物合成途径、苯丙烷类生物合成途径、氨基苯甲酸盐降解途径和次生代谢物生物合成途径成气泡颜色较深，说明这些代谢途径受温度变化影响较大。

表6 差异组分参与的代谢途径

Table 6 Metabolic pathways involved in differential components			
代谢途径	Pvalue_adjusted	代谢物KEGG编号	代谢途径KEGG编号
苯丙素的生物合成	0.00000525	C09727;C02325;C01197;C00482;C10208	map01061
异黄酮生物合成	0.00062	C10208;C14536;C09126	map00943
苯丙烷类生物合成	0.00062	C02325;C01197;C00482	map00940
氨基苯甲酸盐降解	0.0246	C06672;C10833	map00627
次生代谢物的生物合成	0.0398	C09727;C02325;C01197;C00482;C10208;C1453	map01110
6			
黄酮和黄酮醇的生物合成	0.145	C04293	map00944
类黄酮生物合成	0.17	C09727	map00941
芳香化合物的降解	0.475	C01197	map01220
不同环境中的微生物代谢	0.571	C06672;C10833	map01120
新陈代谢途径	0.594	C023251;C01197;C00482	map01100

由表6可知，涉及到这10条代谢通路的差异组分有表儿茶素（C09727）、芥子醇（C02325）、咖啡酸（C01481）、大豆苷元（C10208）、金雀异黄素（C06563）、芥子酸（C00482）、香草酸（C06672）和金圣草黄素（C04293）。本试验通过KEGG富集差异组分得到的10条代谢通路，其中部分代谢通路与高温环境下酚类化合物含量下降有关。因此在小米未经过加工处理前，使其保持良好的环境温度（尤其是夏季），以延缓酚类物质的代谢，尽可能将酚类化合物的含量维持在最高水平，同时保持功能因子的保健功效。

3 结论

本试验通过单因素和正交试验得到小米粥最优煮制参数为：煮制时间15 min，煮制功率700 w，料液比1:25。煮制后小米粥游离酚清除DPPH能力下降了2.2%，总抗氧化能力下降了1.91 U/mL；小米粥结合酚清除DPPH能力下降了9.69%，总抗氧化能力下降了3.06 U/mL。通过福林酚法测定游离酚和结合酚含量，试验结果表明游离酚比结合酚对煮制更加敏感，说明结合酚在体内可能起到更为关键的作用。通过植物代谢组的方法，定性分析出37种多酚类化合物，其中鼠曲草黄素、表儿茶素、光甘草素、金圣草黄素等19种酚类化合物均呈显著性差异。通过KEGG富集分析得到了10个代谢通路。在定性出的37种物质中，表儿茶素、芦丁、香兰素、咖啡酸、大豆苷元等研究较为广泛，但辛弗林、间香豆酸、环桑皮黄素、刺芒柄花素、鼠曲草黄素、荭草素等物质鲜有研究，甚至鲜少有人深入了解其结构及功能特性。但是，多酚类化合物作为小米粥中重要的养胃功能因子，其研究价值不应被忽略。后续研究可对多酚类化合物进行分离纯化，对每一种多酚类化合物进行体内和体外功能特性的研究，例如：细胞抗氧化活性、修复被损伤的胃上皮细胞及动物试验等。从酚类化合物的角度阐明小米粥养胃的机制，筛选出高效、无毒害作用的功能因子，为功能性食品的开发提供理论依据。

参考文献：

- [1] 单璐.不同加工方式小米营养成分的变化[D]. 山西: 山西大学, 2016.
- [2] LI A N, ZHANG Y J, XU X, et al. Resources and Biological Activities of Natural Polyphenols[J]. *Nutrients*, 2014, 6(12): 6020-6047. DOI: 10.3390/nu6126020.
- [3] WANG J, TANG L. Biomarkers of Dietary Polyphenols in Cancer Studies:Current Evidence and Beyond[J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2015, 1-14. DOI: 10.1155/2015/732302.
- [4] SHAHIDI F, CHANDRASEKARA A. Millet grain phenolics and their role in disease risk reduction and health promotion: A review. [J]. *Journal of functional foods*. 2013, 5(2): 570-581. DOI: 10.1016/j.jff.2013.02.004.
- [5] DEVI P B, SATHYABAMA S MALLESHI N G, et al. Health benefits of finger millet (*Eleusine coracana* L.) polyphenols and dietary fiber: a review[J]. *Journal of Food Science and Technology*. 2014, 51(6),1021-1040. DOI: 10.1007/s131 97-011-0584-9.
- [6] 魏春红, 何丽娜, 等. 酶法辅助提取小米多酚的工艺研究[J]. *中国粮油学报*, 2019, 1:93-98.
- [7] 延莎, 王晓闻等. 不同米色小米多酚提取物的体外抗氧化活性[J]. *中国粮油学报*, 2017, 32(10): 33-38. DOI:SUN: ZLYX.0.2017-10-007.
- [8] 张玲艳, 范柳萍等. 蒸煮对小米营养成分及抗氧化活性的影响[J]. *食品科学*, 2017, 38(24): 113-117. DOI: 10.7506/spkx1002-6630-201724018.
- [9] V G BALASUBRAMANIAM, P AYYAPPAN, S SATHVIKA, et al. Effect of enzyme pretreatment in the ultrasound assisted extraction of finger millet polyphenols[J]. *Journal of Food Science and Technology*. 2019. DOI: 10.1007/s13197-019-03672-2.
- [10] HITHAMANI G, SRINIVASAN K. Effect of domestic processing on the polyphenol content and bioaccessibility in finger millet (*Eleusine coracana*) and pearl millet (*Pennisetum glaucum*)[J]. *Food Chemistry*. 2014, 164: 55-62. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.04.107.
- [11] TAYLOR J R, DUODU K G. Effects of processing sorghum and millets on their phenolic phytochemicals and the implications of this to the health-enhancing properties of sorghum and millet food and beverage products[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2014, 95(2): 225-237. DOI: 10.1002/jsfa.6713.
- [12] 冷雪, 曹龙奎. 利用差示扫描量热仪研究小米淀粉及小米粉的糊化特性[J]. *食品科学*, 2015, 36(19): 60-65. DOI: 10.7506/pk1 002-6630-201519011.
- [13] 焦华杰. 方便小米粥生产工艺及糊化回升机理研究[D]. 河北: 河北农业大学, 2013.
- [14] ANOMA C HANDRASEKARA , F EREIDON S HAHIDI. Content of Insoluble Bound Phenolics in Millets and Their Contribution to Antioxidant Capacity[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(11): 6706-6714. DOI: 10.1021 /jfl00868b.
- [15] IRAKLI M, SAMANIDOU V F, BILIADERIS C G, et al. Development and validation of an HPLC-method for determination of free and bound phenolic acids in cereals after solid-phase extraction[J]. *Food Chemistry*, 2012, 134(3),1624-1632. DOI: 10.1016/ j.foodchem.2012.03.046.
- [16] SINGLETON V L. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent[J]. *Methods Enzymo*, 1999,299:152-178. DOI: 10.1016/S0076-6879(99)99017-1.
- [17] 夏甜天. 燕麦多酚在不同加工方式下的活性变化及产品创制[D]. 黑龙江: 黑龙江八一农垦大学, 2018: 12-20.
- [18] 赵霞. 热加工和发芽处理对燕麦多酚含量和抗氧化性的影响[D]. 浙江: 江南大学, 2016: 9-25.
- [19] ZHA H, CAI Y, Yin Y. et al. SWATH to MRM: Development of High-Coverage Targeted Metabolomics Method Using SWATH Technology for Biomarker Discovery[J]. *Analytical Chemistry*, 2018, 90(6): 4062-4070.DOI: 10.1021/acs.analchem.7b05318.
- [20] LUO P, YIN P, ZHANG W, et al. Optimization of large-scale pseudotargeted metabolomics method based on liquid chromatography -mass spectrometry.[J]. *Journal of Chromatography A*, 2016, 1437: 127-136.DOI: 10.1016/j.chroma.2016.01.078.
- [21] KUHI C, TAUTENHAHN R, BOTTCHEER C, et al. CAMERA: An integrated strategy for compound spectra extraction and annotation of liquid chromatography/mass spectrometry data sets[J]. *Analytical Chemistry*, 2012, 84(1):283-9. DOI: 10.1021/ac202450g.
- [22] AGUILERA Y, ESTRELLA I, BENITEZ V, et al. Bioactive phenolic compounds and functional properties of dehydrated beanflours[J]. *Food Research International*, 2011,44(3):774-780. DOI:10.1016/j.foodres.2011.01.004.

- [23] GUJRAL H S, SHARMA P, RACHNA S. Effect of sand roasting on beta glucan extractability, physicochemical and antioxidant properties of oats[J]. *Lwt-Food Science and Technology*, 2011, 44(10): 2223-2230. DOI: 10.1016/j.lwt.2011.06.001.
- [24] CHANDRASEKARA A NDRASEKARA A. Content of insoluble bound Phenolics in millets and their contribution to antioxidant capacity[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(11): 6706-6714. DOI:10.1021/jf100868b.
- [25] 颜才植,叶发银,赵国华. 食品中多酚形态的研究进展[J]. *食品科学*, 2015, 36(15): 249-254.DOI: 10.7506/spkx1002-6630 - 201515046.
- [26] KUMARI D, MADHUJITH T, CHANDRASEKARA A. Comparison of phenolic content and antioxidant activities of millet varieties grown in different locations in Sri Lanka[J]. *Food Science & Nutrition*,2016, 5(3): 474-485. DOI:10.1002/fsn3.415.
- [27] 程安玮,孙金月,等. 4种豆类中多酚、类黄酮含量及抗氧化活性研究[J]. *中国粮油学报*, 2017, 32(10): 28-32. DOI: 10.3969/j.issn.1003-0174.2017.10.005.
- [28] HITHAMANI G, SRINIVASAN K. Effect of domestic processing on the polyphenol content and bioaccessibility in finger millet (*Eleusine coracana*) and pearl millet (*Pennisetum glaucum*)[J]. *Food Chemistry*, 2014, 164,55-62. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.04.107.
- [29] HARAKOTR B, SURIHARN B, TANGWONGCHAI R, et al. Anthocyanin, phenolics and antioxidant activity changes in purple waxy corn as affected by traditional cooking[J]. *Food Chemistry*, 2014, 164: 510-517. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.05.069.
- [30] ANKOLEKAR C, JOHNSON D, PINTO M, et al. Inhibitory potential of tea polyphenolics and influence of extraction time against *Helicobacter pylori* and lack of inhibition of beneficial lactic acid bacteria[J]. *J Med Food* 2011; 14: 1321-1329. DOI: 10.1089/jmf.2010.0237.
- [31] DEWANTO V, WU X, LIU R H. Processed sweet corn has higher antioxidant activity[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, 50(17): 4959-4964. DOI: 10.1021/jf0255937.
- [32] PRADEEP P M, SREERAMA Y N. Impact of processing on the phenolic profiles of small millets: evaluation of their antioxidant and enzyme inhibitory properties associated with hyperglycemia[J]. *Food Chemistry*, 2015, 169: 455-463. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.08.010.
- [33] 黄芳. 绿原酸对镉暴露大鼠肠道屏障的保护作用及机制[D]. 江西: 南昌大学, 2018.
- [34] LA CASA C, VILLEGAS I, ALARCON DE LA LASTRA, et al. Evidence for protective and antioxidant properties of rutin, a natural flavone, against ethanol induced gastric lesions. [J]. *Ethnopharmacol* 2000; 71: 45-53. DOI: 10.1016/S0378- 8741(99)00174-9.
- [35] NAYAK B, LIU R H, TANG J. Effect of processing on phenolic antioxidants of fruits vegetables, and grains a review[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2015, 55(7): 887-918. DOI: 10.1080/10408398.2011.654142.
- [36] 杨颖,王军,陈敏,等. 贮藏期香椿中多酚类物质含量与相关酶活变化的关系[J]. *食品科技*, 2010, 35(2): 24-28.