

乾燥及貯藏處理對餘甘子機能成分含量的影響

賴瑞聲^{1*}、郭曜豪²、蔡淑珍³、劉雲聰¹

¹行政院農業委員會苗栗區農業改良場

²衛生福利部國家中醫藥研究所

³行政院農業委員會農業試驗所

摘要

餘甘子(*Phyllanthus emblica* L.)在臺灣主要當作傳統果樹利用，近年來因調節血糖等保健功效而受到重視，國內正進行餘甘子機能性產業價值鏈整合研發，採收後的果實如何乾燥調製及保存是其中一環。本研究以TS01、TT01及MG03等3個不同果實大小之品系，分別進行冷凍乾燥以及40、60、80、100°C熱風乾燥，評估乾燥溫度與維生素C、總多酚、總黃酮等含量及ORAC(Oxygen Radical Absorption Capacity)抗氧化能力之關係，結果顯示隨著乾燥溫度越高，維生素C含量降低，但對總多酚及總黃酮含量無顯著影響；總多酚、總黃酮含量及ORAC抗氧化能力三者之間有顯著正相關，小果MG03品系之總多酚、總黃酮含量最高，也有最佳ORAC抗氧化表現。進一步比較不同乾燥處理對MG03品系指標成分含量之影響，結果顯示沒食子酸(gallic acid)、沒食子酸苷(β -glucogallin)等8個成分之間存在互為消長關係，隨著乾燥溫度升高，gallic acid、mucic acid dimethyl ester 2-O-gallate及1-O-trans-cinnamoyl- β -D-glucopyranose含量增加，而 β -glucogallin及methyl gallate含量則減少，但不同乾燥處理對 α -glucosidase活性抑制則無顯著差異(0.36~0.49 μ g/mL)。MG03品系冷凍乾燥材料及粗萃取物分別於4°C貯藏， β -glucogallin含量都以第0個月最高，貯藏後有降低情形，但4~6個月差異不大；冷凍乾燥材料0~6個月貯藏時間對 α -glucosidase活性抑制無明顯影響(IC₅₀為1.93~2.23 μ g/mL)，但粗萃取物貯藏2~6個月後抑制能力則變差，因此，仍建議以乾燥果實的型態進行保存，以供產業後續磨粉或萃取應用。

關鍵詞：餘甘子、乾燥溫度、貯藏、沒食子酸、沒食子酸苷

前言

餘甘子(*Phyllanthus emblica* L.)又稱

為印度醋栗(Indian gooseberry)，原產於亞洲熱帶地區，在印度與西藏是一種知

*論文聯繫人

Email: larry@mdais.gov.tw

名度非常高的藥食兼用果樹，大約在唐朝時代傳至中國，因鮮果初食味酸澀，食用後回味甘甜爽口，故名餘甘或餘甘子，目前主要產區為印度及中國大陸，主要利用部位為果實，鮮果含水分79.8%，碳水化合物6.6%，灰分0.62%，蛋白質0.69% (Barthakur *et al.*, 1991)，含有谷氨酸、脯氨酸及天冬氨酸等16種氨基(姚小華等, 1993)，富含人體必須的鋅、鎘、硒、鉻、鐵、銅、錳等16種微量元素及鉀、鈉、鈣、磷等礦物元素 (Barthakur *et al.*, 1991)，一般認為其維生素C含量相當高(趙等, 2002)。

傳統中醫藥認為餘甘子味甘、酸、澀，性涼，具有清熱生津、清咽利喉、止咳化痰、保肝解毒、健胃消食等功效，現代醫學證實則具有調節血糖 (Faizal *et al.*, 2009; Krishnaveni *et al.*, 2010)、調節血脂(范源、劉竹煥, 2011, 高愛秀等, 2007, Faizal *et al.*, 2009; Krishnaveni *et al.*, 2010)、抗衰老 (Yokozawa *et al.*, 2007)等多種保健功效，可能與酚類化合物、黃酮及多糖等機能成分有關，其中最特別的是含有大量的單寧成分，其總含量高過10%，並且許多為水溶性，目前已知的單寧成分如訶子酸 (chebulinic acid)、原訶子酸 (terchebin)、訶子裂酸 (chebulic acid)、老鶴草素 (geraniin)、isostriictiniin、杜英素 (elaecarpusin)、訶黎勒酸 (chebulagic acid)、phyllanemblinin A~F等，酚類化合物則包括沒食子酸 (gallic acid)、鞣花酸 (ellagic acid)、餘甘子酚 (emblicol)、槲皮素 (quercetin)、齊墩果酸 (oleanolic acid) 及原兒茶酸 (protocatechuic acid)，以及多種

黏酸或蘋果酸與沒食子酸相結合的化合物等 (王輝, 2011; 張等, 2003; 鄧等, 2009; 侯等, 2002; 郭等, 2013)，藥材則以沒食子酸為對照成分。

在調節血糖或抗糖尿病功效有二種常見酵素抑制評估模式，其一為葡萄糖苷酶 (α -glucosidase) 活性抑制評估，葡萄糖苷酶位於小腸中，可將澱粉及雙糖分解為葡萄糖，進而使血糖升高，酚類化合物及黃酮類成分具有抑制 α -glucosidase 活性潛力，進而減緩血糖升高；在孟加拉11種植物中，餘甘子多酚含量高達 339 mg gallic acid equivalent (GAE)/g，且還原能力佳，萃取物在試管試驗中 1mg/mL 可完全抑制 α -glucosidase 活性 (Hossain *et al.* 2008)；Jemain等學者(2011)針對22種馬來西亞植物進行試管內 α -amylase 及 α -glucosidase 活性抑制評估，其中餘甘子同屬植物 *Phyllanthus pulcher* 表現甚佳，其 IC_{50} 分別為 5.5 μ g/mL 及 2.8~3.7 μ g/mL。另一模式為醛糖還原酶 (Aldose reductase) 活性抑制評估，眼睛及神經細胞等組織之醛糖還原酶含量較高，在高血糖條件下，促使體內的葡萄糖轉化為山梨醇，累積於細胞內，導致白內障、神經病變、腎臟病變、視網膜病變等糖尿病併發症，餘甘子之沒食子酸苷 (β -glucogallin) 及鞣花酸是已知的醛糖還原酶抑制劑，可減緩高血糖併發症的發生 (Suryanarayana *et al.*, 2004; Puppala *et al.*, 2012)。

餘甘子在臺灣食用歷史已逾300年，最早取客家音譯為油柑，或稱為油甘，曾以油甘蜜餞盛行於1950~1960年，近年

來其國內外保健功效科學驗證資料愈來愈多，餘甘子重新受到重視，國內目前正進行餘甘子機能性產業價值鏈整合研發，除了每年8~12月鮮果產期直接以鮮果利用外，乾燥材料是常見保存方式，因此必須評估乾燥及貯藏條件對餘甘子沒食子酸等機能成分含量的影響，以作為餘甘子產業應用的參考。

材料及方法

一、材料及乾燥方式

餘甘子TS01、TT01及MG03共3個品系果實於2016年11月採收，分別進行冷凍乾燥、及40°C、60°C、80°C、100°C不同熱風乾燥處理，乾燥後貯藏於4°C備用。

二、萃取方式及總酚、總黃酮含量分析

取餘甘子乾粉5 g加100 mL水，於迴流加熱器中加熱萃取40分鐘，以4號濾紙過濾取萃取液，而後進行pH、可滴定酸、總多酚類、總黃酮類、維生素C及ORAC抗氧化分析，各四重複。

(一)可滴定酸：取萃取液5 mL，加入35 mL水，測定pH值及可滴定酸度。

(二)總多酚類含量測定：取萃取液10 μ L加水990 μ L稀釋，加入2 mL水及0.25 mL 1N Folin-Ciocalteus reagent 混合均勻靜置5分鐘；加入0.25 mL 20% Na_2CO_3 溶液混合均勻，作用2小時，以SH-1000分光光度計測定750 nm吸光值，並以沒食子

酸(gallic acid)為對照標準品。

(三)總類黃酮測定：取萃取液100 μ L加400 μ L水稀釋，加入30%酒精2 mL，加入0.15 mL 5% NaNO_2 (振盪反應6分鐘)，加入0.15 mL 10% $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (振盪反應6分鐘)，最後加入2 mL 1N NaOH 及0.2mL H_2O 反應15分鐘，以SH-1000分光光度計測定510 nm吸光值，並以槲皮素(quercetin)為對照標準品製作檢量線。

(四)維生素C含量測定：取餘甘子乾粉0.1g+10 mL 1%草酸溶液混合，以RQ flex plus reflectometer及Test Acide ascorbique 試紙(25-450mg/L)測定。

(五)ORAC(Oxygen Radical Absorption Capacity)抗氧化測定：當天配製0.5mM AAPH 2.2-Azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride 自由基生成劑置於4°C低溫備用。取餘甘子5 μ L萃取液加水4995 μ L水稀釋；以Trolox標準品(MW250.29)及75mM磷酸鉀緩衝液配置0、20、40、60、80及100 μ M Trolox標準溶液，將 H_2O 、Trolox標準溶液及餘甘子稀釋樣品各取25 μ L置於避光96孔盤中，加入Fluorescein(MW376.27)螢光反應液150 μ L(1.26×10^{-7} M)，再加入

25 μ L 0.5mM AAPH自由基生成劑，立即將96孔盤放入螢光探測儀中震盪8秒，反應溫度37 $^{\circ}$ C，激發波長485nm，散射波長528nm，每隔2-5分鐘紀錄螢光強度值，反應進行到螢光值降至最初螢光值2%為止。

三、不同乾燥處理對指標成分含量之影響

以餘甘子MG03品系冷凍乾燥及40 $^{\circ}$ C、60 $^{\circ}$ C、80 $^{\circ}$ C、100 $^{\circ}$ C不同熱風乾燥處理共5個樣品為材料，經甲醇萃取後進行HPLC分析，濃縮乾燥後定量進行 α -glucosidase活性抑制分析，三重複。

四、餘甘子冷凍乾燥原料及萃取物低溫貯藏試驗

以MG03品系果實經冷凍乾燥為材料，以50%乙醇及水分別進行三次萃取，固液比1:30，合併濾液，經減壓濃縮及冷凍乾燥為粗萃取物。將冷凍乾燥果實及粗萃取物分別放置於4 $^{\circ}$ C低溫貯藏，於貯藏期第0、2、4、6個月取出萃取或復溶，進行HPLC分析及 α -glucosidase活性抑制分析，以評估貯藏安定性，各三重複。

五、HPLC成分分析

HPLC分析儀為Shimadzu SCL 10Avp System Controller，層析管柱Cosmosil AR-II C18 Column (250 x 4.6 mm, 5 μ m)，管柱溫度10 $^{\circ}$ C，樣品注入量3 μ L，移動相為乙腈：0.1%磷酸(%，v/v)，由

4:96 (0分鐘) 拉梯度至100:0 (60分鐘)，SPD-10Avp UV-Vis檢測器，偵測波長273nm。指標成分 β -glucogallin及gallic acid標準品購自KM3力方科技，標準品溶液1 mg/mL，分別進樣15、10、1、0.5及0.1 μ L以製作檢量線，以作為樣品之定性定量分析；其餘成分為分離純化後，綜合運用1D及2D-NMR技術，利用 1 H-NMR、 13 C-NMR、COSY、HMBC、HMQC譜進行化合物的平面結構確認，利用NOESY譜進行相對立體結構的確認，輔以Mass、UV、IR等光譜方法對化合物的結構進行推導，同時與參考文獻進行化合物數據的比對，進行化學結構最後確認，以成分波峰積分面積作為樣品間含量比較。

六、試管內 α -glucosidase活性抑制評估

所用 α -glucosidase源自*Saccharomyces cerevisiae*，購自Sigma公司，所有反應液0.1M Phosphate buffer (pH 6.8)配製，於96孔盤中分別加入50 μ L萃取物(0.1-1000 μ g/mL)及25 μ L α -glucosidase(1 U/mL)，在37 $^{\circ}$ C反應10分鐘，而後加入50 μ L *p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside 溶液(4mM)再反應30分鐘，測定405 nm吸光值，以以0.1M Phosphate buffer取代萃取物作為空白對照，計算抑制50% α -glucosidase活性之樣品濃度(IC₅₀)。

七、統計分析

試驗採完全逢機設計，試驗資料以SAS EG ver.7.1統計分析軟體進行變方分析及簡單相關分析，並利用最小顯著差

異性測驗(least significant difference test, LSD)比較各處理平均值間之差異。

結果

餘甘子品系特性及不同乾燥樣品型態

餘甘子3個參試品系中，以TS01品系果實最大，TT01品系次之，而MG03品系最小，但果核大小無明顯差異，主要差異在果肉厚度及重量，TS01品系全果乾物率為16.0~19.5%，TT01乾物率為15.5~18.6%，而MG03品系乾物率則為22.7~25.5%，與其果核比率較高有關（表一）。餘甘子樣品經不同溫度乾燥處理，其外觀形態及顏色有明顯差異，MG03品系冷凍乾燥可保持果實球形形態，並且顏色淺，而熱風乾燥處理呈皺縮型態，隨者乾燥溫度愈高，外觀顏色愈深（圖一），可能與梅納反應(Maillard reaction)有關。

乾燥處理對化學成分及抗氧化能力的影響

3個餘甘子品系不同乾燥樣品之pH測定分別為TS01品系3.44~3.54，TT01品系為3.57~3.61，MG03品系為3.49~3.65，可滴定酸度介於8.75~15.12%檸檬酸當量之間，仍保有酸味特性，3個品系中以TS01酸度最高，而MG03品系最低（圖二a）；維生素C含量分析也以TS01品系較高，乾燥處理則以冷凍乾燥能保有較高維生素C含量，隨著乾燥溫度上升，維生素C含量有減少的趨勢（圖二b）。3個品系之總黃酮及總酚含量則以MG03品系最高（圖二c及圖二d），ORAC抗氧化能

力也較高（圖二e）；不同溫度乾燥處理對總黃酮及總酚含量影響，則顯示以冷凍乾燥有略高於40°C處理之趨勢，在40°C~100°C處理區間，總酚及總黃酮含量則有隨著乾燥溫度增加而些微增加的趨勢（圖二c及圖二d）。進一步比較乾燥溫度與pH值、可滴定酸、維生素C、總黃酮、總多酚含量及ORAC抗氧化能力之相關性，整理結果如表二，乾燥溫度與維生素C含量呈顯著負相關，意即隨乾燥溫度增加而維生素C含量減少，但乾燥溫度與其他含量則無顯著相關性；總黃酮及總多酚含量則有顯著正相關，並與ORAC抗氧化能力呈顯著正相關，也就是總多酚含量愈高，則總黃酮含量也愈高，且ORAC抗氧化能力愈佳。

乾燥處理對指標成分含量及 α -glucosidase活性抑制的影響

經前述試驗顯示不同溫度乾燥處理對總酚及總黃酮等大類成分含量無顯著影響，進一步以MG03品系材料進行HPLC成分分析，其HPLC圖譜如結果圖三，可確認10個指標成分之色譜峰，依序為 β -glucogallin (9.9')、gallic acid (13.6')、mucic acid 1,4-lactone 5-*O*-gallate methyl ester(16.2')、mucic acid dimethyl ester 2-*O*-gallate(20.1')、methyl galloate (30.7')、1,6-di-*O*-galloyl- β -D-glucopyranose (32.2')、ethyl gallate (45.5')、ent-isolariciresinol(53.7')、1-*O*-trans-cinnamoyl- β -D-glucopyranose (54.3')及 quercitrin(55.2')，其中 β -glucogallin與gallic acid可取得市售標準品製作檢量線以進行定量分析，而其他8個

化合物則分別以波峰面積進行含量比較，但ent-isolariciresinol及quercitrin無法進行面積積分，不列入本次試驗比較，MG03品系不同乾燥樣品甲醇萃取物之HPLC分析結果整理如表三，其中gallic acid、mucic acid dimethyl ester 2-*O*-gallate及1-*O*-trans-cinnamoyl- β -D-glucopyranose含量有隨著乾燥溫度增加而增加的趨勢，而 β -glucogallin及methyl gallate含量則是隨著乾燥溫度增加而減少；不同乾燥樣品之甲醇萃取物對 α -glucosidase活性抑制評估結果，則以冷凍乾燥樣品表現較差，其 IC_{50} 為1.20 μ g/mL，與熱風乾燥樣品達顯著性差異（ IC_{50} 為0.36~0.49 μ g/mL）。餘甘子以gallic acid為指標成分，本研究所建立之HPLC圖譜也多為gallic acid衍生物，進一步探討乾燥溫度與gallic acid及其衍生成分之相關性，結果顯示如表四，乾燥溫度、gallic acid、mucic acid dimethyl ester 2-*O*-gallate、1-*O*-trans-cinnamoyl- β -D-glucopyranose、 β -glucogallin及methyl gallate等成分確實有顯著相關性，gallic acid與 β -glucogallin、methyl gallate及1,6-di-*O*-galloyl- β -D-glucopyranose等3個成分呈負相關，其含量互為消長，而 β -glucogallin與methyl gallate及1,6-di-*O*-galloyl- β -D-glucopyranose 2個成分成顯著正相關；然而，這8個指標成分與試管內 α -glucosidase活性抑制評估並無顯著相關性，也表示這些成分不是抑制 α -glucosidase的活性成分。

餘甘子冷凍乾燥原料及萃取物貯藏穩定性評估

餘甘子MG03品系冷凍乾燥材料於4°C貯藏， β -glucogallin含量以新鮮乾燥含量最高，貯藏後有降低情形，但4~6個月差異不大，gallic acid含量在0~4個月期間差異不大，但6個月則明顯增加，0~6個月貯藏時間對 α -glucosidase活性抑制則無明顯影響（ IC_{50} 為1.93~2.23 μ g/mL）。另以粗萃取物於4°C貯藏，則 β -glucogallin含量仍以貯藏0個月時最高，而後顯著降低，但在2~6個月期間差異不大，對 α -glucosidase活性抑制則隨貯藏時間增加而降低（表五），另一水層萃取物也是相同趨勢（資料未提供），表示以冷凍乾燥粗原料型態冷藏保存是為較佳方式。

討論

本研究為推動國產餘甘子安全機能性產業價值鏈整合之一部分，著重在不同餘甘子材料特性比較，尤其是機能成分含量變化以及對保健功效的影響，鮮果、果汁、乾燥果實及萃取物是產業常見形態。本試驗所採用之3個品系是以果實大小作挑選，結果顯示小果MG03品系之總酚含量及總黃酮含量最高，且總酚及總黃酮含量愈高則ORAC抗氧化能力愈高，三者間呈顯著正相關。印度Mishra等學者(2009)也指出相同趨勢，野生品種果實小，鮮果重量17.66g/個，可溶性固形物13.1%^{Brix}，總多酚含量較高(32.32 g

gallic acid equivalent /100 g dw)，維生素C含量也較高，而栽培品種Chakiya果實大，鮮果重量28.88g/個，可溶性固形物9.3%^{Brix}，但總多酚含量略低(24.5 g gallic acid equivalent /100 g dw)。一般認為總酚、總黃酮含量與抗氧化能力有高度相關，具有保健利用潛力，有多篇研究報告指出餘甘子總多酚及總黃酮含量高，在還原能力或避免H₂O₂對DNA的傷害等，都表現出極佳的抗氧化能力(Hossain *et al.*, 2008; Ashadevi *et al.*, 2014)。另外，值得注意的是印度品種果實明顯大於國產餘甘子（重量6~12g/個），或可藉由引種進行比較及確認，在臺灣，大果品系及小果高成分含量品系將分別規劃鮮食及保健加工應用。

在乾燥溫度對機能成分含量影響方面少有文獻資料，Mishra等學者(2009)針對印度餘甘子Chakiya品種果汁進行不同方式乾燥製粉（冷凍乾燥、日曬乾燥、70°C熱風乾燥等），結果顯示冷凍乾燥之維生素C含量最高，而日曬乾燥樣品最低，70°C熱風乾燥其次，顯示冷凍乾燥可維持較佳的維生素C含量，本試驗也看到相同的結果（圖二b）。餘甘子藥材對照標準品為沒食子酸，但其單體成分在材料中含量並非最高，而是以沒食子酸苷或與其他成分等結合方式存在（圖三及表三），也是屬於總酚或總黃酮可測得的含量，因此，雖然不同溫度熱風乾燥處理對總酚及總黃酮含量影響不大（圖二c、d及表二），但指標成分之間卻存在明顯相互消長（表四），此外，餘甘子尚含有鞣花酸、kaempferol、caffeic acid及phyllanemblinin A~F等多種

酚類化合物成分，但未能在本次研究之HPLC圖譜定性分析，無法同步檢視其彼此間之含量消長。

在餘甘子不同型態樣品貯藏及貯藏條件方面，鮮果於5°C~室溫等不同貯藏溫度條件下，果實水分、可溶性固形物、維生素C及有機酸含量在5°C貯藏損失最小（張等，2014；宋等，2014）；5°C恆溫條件下，沒食子酸、單寧酸、沒食子酸苷含量在貯藏1~4天均下降，之後單寧酸、沒食子酸苷呈緩慢波動上升趨勢，而沒食子酸在16天後開始急劇上升（陳等，2016）；隨著貯藏時間的延長，鮮果沒食子酸明顯增加，維生素C的含量逐漸下降，其中以沒食子酸含量變化最為顯著（范等，2014）。餘甘子果汁噴霧乾燥精粉在5°C貯藏條件下，也能維持較高沒食子酸和單寧酸含量（任等，2016）。餘甘子Chakaiya品種榨取果汁後，經75~95°C不同溫度殺菌處理後貯藏於室溫，在9個月期間維生素C及多酚含量隨貯藏時間而減少，90及95°C殺菌處理果汁褐化情形較明顯，gallic acid隨著貯藏時間延長而快速增加，並且95°C處理者高於75°C處理樣品，但kaempferol及caffeic acid含量隨貯藏時間而下降(Bhattacharjee *et al.*, 2011)。由上述文獻可得知餘甘子維生素C也是不穩定型態，會隨著貯藏時間而減少，激烈乾燥條件將會影響其含量變化；而沒食子酸則隨貯藏時間而增加，但其他成分則可能相對應減少，在本研究中也看到沒食子酸則隨貯藏時間而增加，但其他成分的消長趨勢則不明顯（表五）。

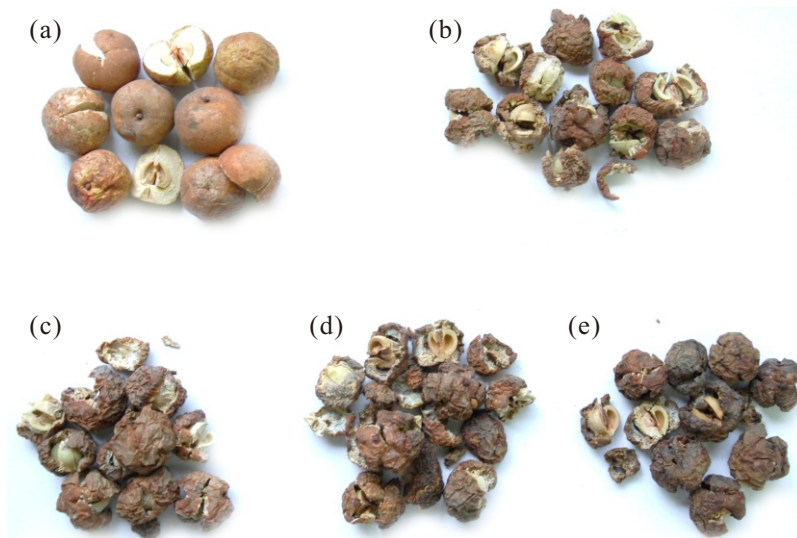
試管內葡萄糖苷酶(α -glucosidase)活

性抑制是調節血糖潛力作物或成分之篩選平台，Jemain等學者(2011)針對22種馬來西亞植物進行試管內 α -amylase及 α -glucosidase活性抑制評估，其中餘甘子同屬植物*Phyllanthus pulcher*表現甚佳，其 IC_{50} 分別為 $5.5\mu\text{g/mL}$ 及 $2.8\sim 3.7\mu\text{g/mL}$ ；而餘甘子萃取物 1mg/mL 可完全抑制 α -glucosidase活性(Hossain et al., 2008)。本研究也將葡萄糖苷酶活性抑制列入不同樣品之評估，可惜的是，不同乾燥處理樣品在葡萄糖苷酶活性抑制並無顯著差異， IC_{50} 介於為 $0.36\sim 1.20\mu\text{g/mL}$ 之間（表三），也未能連結找出可能的活性成分（表四）。但在貯藏試驗中則是很好的參考，以冷凍乾燥果實形態保存0~6個月，則葡萄糖苷酶活性抑制 IC_{50} 介於為 $1.94\sim 2.23\mu\text{g/mL}$ 之間，無顯著差異，但以萃取物型態貯藏0~6個月則以第0個月表現較佳， IC_{50} 為 $1.19\mu\text{g/mL}$ ，而貯藏2~6個月後抑制能力則變差，因此，仍建議以果實乾燥後的型態進行保存，此外，如果能進一步結合抽真空或充填氮氣保存方式，更能提供穩定且優質的餘甘子原料，以供產業後續磨粉或萃取應用。

表一 餘甘子3個品系之新鮮果實大小及不同乾燥處理之乾物率

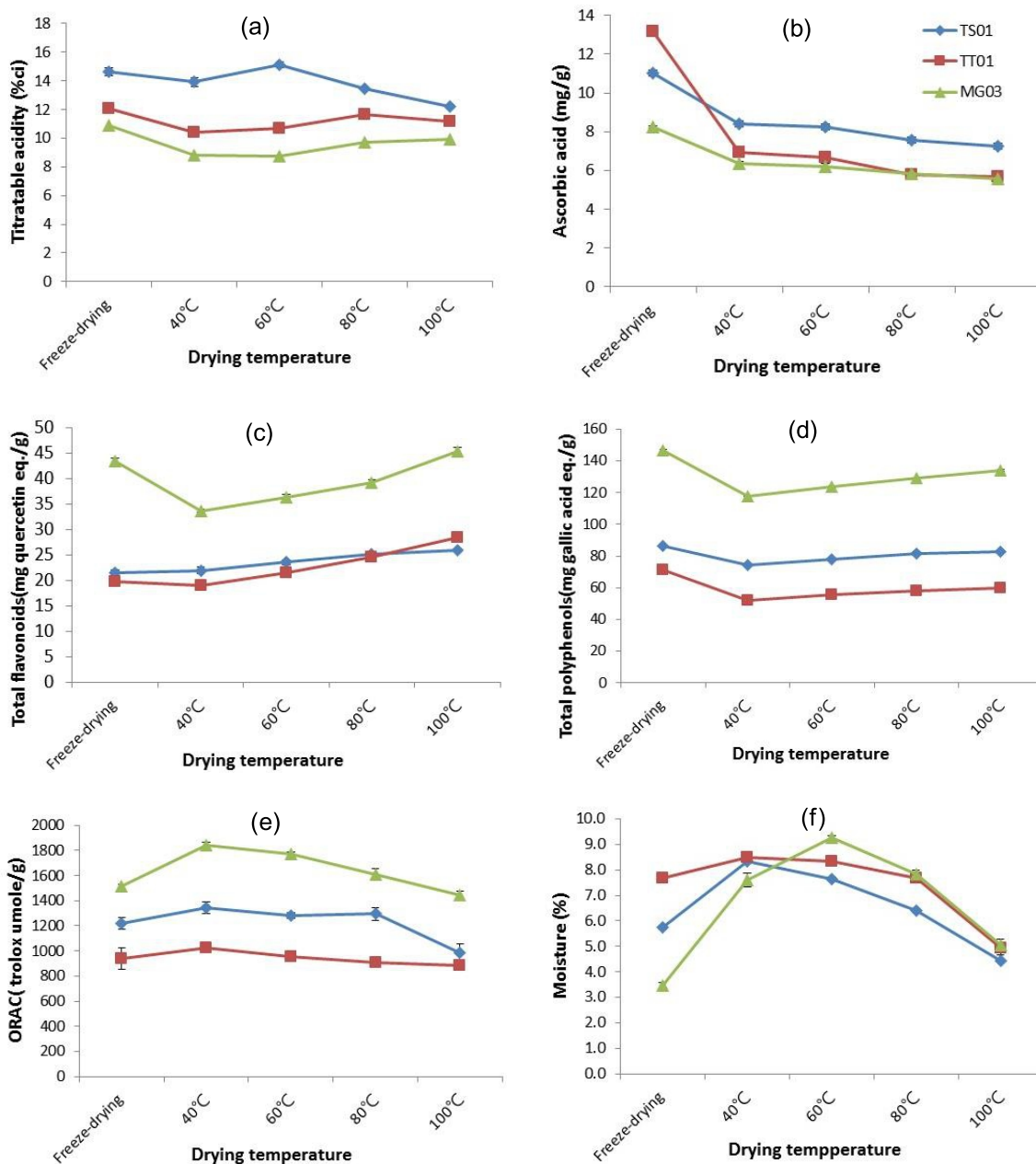
Table 1. The fresh fruit size of three lines of *Phyllanthus emblica* and the dry matter rate of different drying treatments

Line	Fresh fruit				Dry matter rate of different drying treatments				
	Fruit diameter(mm)	Fruit weight(g)	Fruit core weight(g)	Flesh weight(g)	Freeze drying	40°C hot air drying	60°C hot air drying	80°C hot air drying	100°C hot air drying
TS01	24.51 ± 0.40	7.56 ± 0.30	0.65 ± 0.03	6.74 ± 0.30	19.00%	19.50%	18.90%	16.60%	16.00%
TT01	23.84 ± 0.16	6.50 ± 0.05	0.51 ± 0.01	5.84 ± 0.01	18.60%	18.00%	16.50%	15.70%	15.50%
MG03	19.85 ± 0.13	3.91 ± 0.06	0.57 ± 0.02	3.35 ± 0.08	24.40%	25.50%	24.00%	23.00%	22.70%



圖一 餘甘子MG03品系不同溫度乾燥處理之樣品型態，(a)冷凍乾燥，(b)40°C熱風，(c)60°C熱風乾燥，(d)80°C熱風乾燥，(e)100°C熱風乾燥。

Fig. 1. The samples of MG03 line(*Phyllanthus emblica* L.) dried at different temperatures, (a)freeze-dried, (b) hot air dried at 40°C, (c) hot air dried at 60°C, (d) hot air dried at 80°C, (e) hot air dried at 100°C.



圖二 餘甘子3個品系不同乾燥條件之化學成分及ORAC抗氧化測定，(a)可滴定酸（檸檬酸當量）、(b)維生素C、(c)總黃酮（槲皮素當量）、(d)總多酚沒食子酸當量、(e)ORAC抗氧化能力測定及(f)水分含量。

Fig. 2. Determination of chemical component and ORAC anti-oxidation of 3 *Phyllanthus emblica* lines dried at different temperature, (a) titratable acids (citric acid equivalent), (b) vitamin C, (c) total flavonoids (quercetin equivalent), (d) total polyphenols (gallic acid equivalent), (e) ORAC antioxidant capacity and (f) moisture content.

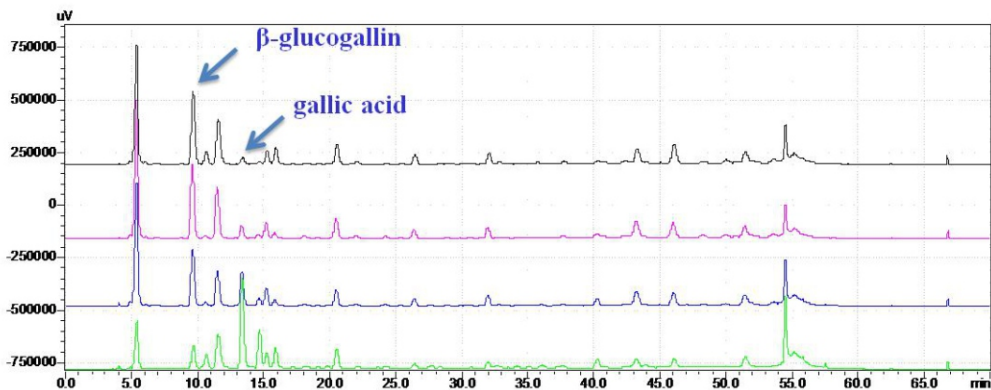
表二 餘甘子乾燥溫度與pH值、可滴定酸、維生素C、總黃酮、總多酚含量及ORAC抗氧化能力之相關性

Table 2. Correlation coefficients between drying temperature, pH value, titratable acidity, ascorbic acid, flavonoid, phenols, and ORAC anti-oxidation of *Phyllanthus emblica*. (n=36)

	Temp	pH	Titratable acidity	Ascorbic acid	Flavonoid	Phenol
pH	-0.085					
Titratable acidity	-0.180	-0.598 *				
Ascorbic acid	-0.732 **	-0.208	0.550 *			
Flavonoid	0.224	-0.015	-0.583 *	-0.459		
Phenol	-0.068	-0.137	-0.443	-0.175	0.914 **	
ORAC	-0.145	0.053	-0.406	-0.233	0.679 **	0.835 **

*Correlation is significant at the 0.05 level.

**Correlation is significant at the 0.01 level.



圖三 餘甘子MG03品系HPLC成分分析，由上至下依序40°C、60°C、80°C及100°C熱風乾燥樣品。

Fig. 3. HPLC analysis of MG03 line (*Phyllanthus emblica*). From top to bottom are 40 °C, 60 °C, 80 °C and 100 °C hot air dried samples individually.

表三 不同乾燥處理對餘甘子MG03品系化學成分含量及 α -glucosidase活性抑制的影響
 Table 3. Effects of different drying condition on chemical ingredient content and inhibition of α -glucosidase activity of *Phyllanthus emblica* MG03 Line

Chemical ingredient	Dry condition						
	Freeze-drying	40°C hot air drying	60°C hot air drying	80°C hot air drying	100°C hot air drying	100°C hot air drying	100°C hot air drying
β -glucogallin (mg/g)	6.711	5.644	5.677	4.431			1.794
Gallic acid(mg/g)	0.094	0.185	0.259	0.588			1.477
Mucic acid 1,4-lactone methyl ester 5-O-gallate(Area)	801224	1981688	814147	750095			2273541
Mucic acid dimethyl ester 2-O-gallate(Area)	126769	208576	283191	266657			360393
Methyl gallate (Area)	1315425	1076008	1057097	961975			686299
1,6-di-O-galloyl- β -D- glucopyranose (Area)	1178742	1173334	1178608	1150525			782575
Ethyl gallate (Area)	1703195	2843849	2344701	2097868			1830880
1-O-trans-cinnamoyl- β -D- glucopyranose (Area)	1346544	3329351	3041589	3809696			5907339
Inhibition of α -glucosidase IC ₅₀ (μ g/mL)	1.20 \pm 0.08b ^z	0.41 \pm 0.04a	0.36 \pm 0.04a	0.45 \pm 0.03a			0.49 \pm 0.07a

^z Means (n=3) within the row followed by the same letter(S) are not significant different at 5% level by Fisher's least significant difference (LSD) test.

表四 餘甘子MG03品系乾燥溫度與成分含量及 α -glucosidase活性抑制之相關係數

Table 4. Correlation coefficients between drying temperature, chemical ingredient, and inhibition of α -glucosidase of *Phyllanthus emblica* MG03 Line. (n =15)

Chemical ingredient	Drying temperature	β -glucogallin	Gallic acid	Mucic acid 1,4-lactone ester 5- <i>O</i> -gallate	Mucic acid methyl 2- <i>O</i> -gallate	Methyl gallate	1,6-di- <i>O</i> -galloyl- β -D-glucopyranose	Ethyl gallate	1- <i>O</i> -trans-cinnamoyl- β -D-glucopyranose
β -glucogallin (mg/g)	-0.907 *								
Gallic acid(mg/g)	0.855 *	-0.987 **							
Mucic acid 1,4-lactone methyl ester 5- <i>O</i> -gallate(Area)	0.381	-0.630	0.599						
Mucic acid dimethyl ester 2- <i>O</i> -gallate(Area)	0.962 **	-0.879 *	0.832	0.447					
Methyl gallate (Area)	-0.958 **	0.972 **	-0.928 *	-0.623	-0.949 **				
1,6-di- <i>O</i> -galloyl- β -D-glucopyranose (Area)	-0.707	0.927 *	-0.963 **	-0.705	-0.731	0.844			
Ethyl gallate (Area)	-0.082	0.256	-0.392	0.236	-0.020	0.057	0.413		
1- <i>O</i> -trans-cinnamoyl- β -D-glucopyranose (Area)	0.931 *	-0.968 **	0.920 *	0.690	0.922 *	-0.995 **	-0.848	-0.010	
Inhibition of α -glucosidase IC ₅₀ (μ g/mL)	-0.693	0.442	-0.310	-0.324	-0.729	0.641	0.170	-0.636	-0.639

*Correlation is significant at the 0.05 level.

**Correlation is significant at the 0.01 level.

表五 餘甘子MG03品系冷凍乾燥原料及粗萃取物於4°C貯藏時間對成分含量及 α -glucosidase活性抑制的影響Table 5. Effect of storage time at 4°C on chemical ingredient content and inhibition of α -glucosidase of freeze dried raw materials and crude extracts of *Phyllanthus emblica* MG03 line.

Chemical ingredient	Freeze dried raw material						Crude extraction					
	0 month	2 months	4 months	6 months	8 months	10 months	0 month	2 months	4 months	6 months	8 months	10 months
β -glucogallin (mg/g)	11.142	6.711	8.518	8.888	16.146	8.565	16.146	8.788	8.565	8.565	8.565	9.265
Gallic acid(mg/g)	0.093	0.094	0.092	0.172	0.181	0.121	0.181	0.139	0.121	0.121	0.121	0.171
Mucic acid 1,4-lactone methyl ester 5-O-gallate(Area)	259138	801224	289290	786516	484326	2397908	484326	1011591	2397908	2397908	2397908	1953137
Mucic acid dimethyl ester 2-O-gallate(Area)	310401	126769	164524	279930	1156737	419148	1156737	588555	419148	419148	419148	892511
methyl gallate (Area)	1512922	1315425	1472296	1633480	2076424	1477358	2076424	1632902	1477358	1477358	1477358	1626806
1,6-di-O-galloyl- β -D- glucopyranose (Area)	2116547	1178742	1360145	1654983	2870142	1474660	2870142	1592415	1474660	1474660	1474660	1645940
Ethyl gallate (Area)	4393928	1703195	2160975	3426855	5041013	2862745	5041013	2999886	2862745	2862745	2862745	4073022
1-O-trans-cinnamoyl- β -D- glucopyranose (Area)	1833925	1346544	1335049	2055342	2644525	1980359	2644525	2120822	1980359	1980359	1980359	2678682
Inhibition of α -glucosidase IC ₅₀ (μ g/mL)	2.06 \pm 0.07b ^z	1.94 \pm 0.11b	1.93 \pm 0.03b	2.23 \pm 0.05b	1.19 \pm 0.02a	2.05 \pm 0.18b	1.19 \pm 0.02a	1.86 \pm 0.04b	2.05 \pm 0.18b	2.05 \pm 0.18b	2.05 \pm 0.18b	3.18 \pm 0.43c

^z Means (n=3) within the row followed by the same letter(S) are not significant different at 5% level by Fisher's least significant difference (LSD) test.

參考文獻

- 王文光、孔楠、袁唯。2007。余甘子的功能成分及其綜合利用。中國食物與營養12: 20-22。
- 王輝。2011。余甘子的化學成分和藥理作用研究進展。中國現代中藥13(11): 52-56。
- 侯開衛。2002。余甘子的化學成分及在民族民間傳統醫藥中的應用。中國民族民間醫藥雜誌59: 345-348。
- 高愛秀、黃興國、唐湘雲。2007。余甘子中水溶性鞣質的抗動脈粥樣硬化作用機制研究。實用預防醫學14(2): 352-355。
- 姚小華、盛能榮。1993。余甘子營養(化學)成分研究。林業科學研究5(2): 170-175。
- 范源、劉竹煥。2011。余甘子活性成分抗動脈硬化作用的研究進展。雲南中醫學院學報34(2): 67-70。
- 張蘭珍、趙文華、郭亞健。2003。藏藥余甘子化學成分研究。中國中藥雜誌28(10): 940-943。
- 郭建民、王建科、李瑋。2013。不同產地余甘子中沒食子酸與槲皮素含量的測定。貴州農業科學41(5): 61-63。
- 趙虹、李紹家、唐莉英。2002。不同成熟期的余甘果實主要成分的研究。雲南農業大學學報17(2): 112-113。
- 鄧才彬、謝慶娟、曲中堂。2009。余甘子化學成分研究。中國藥房20(27): 2120-2121。
- 聶東、馬驍、田徽。2012。余甘子果實化學成分及現代藥理研究進展。綿陽師範學院學報31(11): 61-66。
- Ashadevi, S., B. Benny, and M. S. Sherin.** 2014. Protection of DNA and erythrocytes from free radical induced oxidative damage by methanolic extract of amla (*Phyllanthus emblica*). Int J Pharm Sci Rev Res 28: 38-42.
- Barthakur, N. N. and N. P. Arnold.** 1991. Chemical analysis of the emblic (*Phyllanthus emblica* L.) and its potential as a food source. Scientia Horticulturae 47(1-2): 99-105.
- Bhattacharjee, A. K., D. K. Tandon, A. Dikshit, and S. Kumar.** 2011. Effect of pasteurization temperature on quality of aonla juice during storage. Journal of food science and technology 48(3): 269-273.
- Faizal, P., S. Suresh, R. Satheesh Kumar, and K. T. Augusti.** 2009. A study on the hypoglycemic and hypolipidemic effects of an ayurvedic drug Rajanyamalakadi in diabetic patients. Indian Journal of Clinical Biochemistry 24(1): 82-87.
- Hossain, S. J., I. Tsujiyama, M. Takasugi, M. A. Islam, R. S. Biswas, and H. Aoshima.** 2008. Total phenolic content, antioxidative, anti-amylase, anti-glucosidase, and antihistamine release activities of Bangladeshi fruits. Food Science and Technology Research 14(3): 261-268.

- Jemain, M. M., M. N. Musa'adah, A. Rohaya, L. A. Rashid, and I. N. Hadiani.** 2011. In vitro antihyperglycaemic effects of some Malaysian plants. *Journal of Tropical Forest Science* 23(4): 467-472.
- Krishnaveni, M., S. Mirunalini, K. Karthiashwaran, and G. Dhamodharan.** 2010. Antidiabetic and antihyperlipidemic properties of *Phyllanthus emblica* Linn. (Euphorbiaceae) on streptozotocin induced diabetic rats. *Pakistan Journal of Nutrition* 9(1): 43-51.
- Mishra, P., V. Srivastava, D. Verma, O. P. Chauhan, and G. K. Rai.** 2009. Physico-chemical properties of Chakiya variety of Amla (*Emblica officinalis*) and effect of different dehydration methods on quality of powder. *African Journal of Food Science* 3(10): 303-306.
- Puppala, M., J. Ponder, P. Suryanarayana, G. B. Reddy, J. M. Petrash, and D. V. LaBarbera.** 2012. The isolation and characterization of β -glucogallin as a novel aldose reductase inhibitor from *Emblica officinalis*. *PloS one* 7(4): e31399.
- Suryanarayana, P., P. A. Kumar, M. Saraswat, J. M. Petrash, and G. B. Reddy.** 2004. Inhibition of aldose reductase by tannoid principles of *Emblica officinalis*: implications for the prevention of sugar cataract. *Molecular Vision* 10: 148-154.
- Yokozawa, T., H. Y. Kim, H. J. Kim, T. Okubo, D. C. Chu, and L. R. Juneja.** 2007. Amla (*Emblica officinalis* Gaertn.) prevents dyslipidaemia and oxidative stress in the ageing process. *British Journal of Nutrition* 97(06): 1187-1195.

Effect of drying and storage treatment on functional constituents of *Phyllanthus emblica*

Jui-sheng Lai^{1*}, Yao-Haur Kuo², Shwu-jene Tsai³, and Yun-cong Liu¹

¹ Miaoli District Agricultural Research and Extension Station, Council of Agriculture, Executive Yuan, Miaoli, Taiwan, R.O.C.

² National Research Institute of Chinese Medicine, Ministry of Health and Welfare, Executive Yuan, Taipei, Taiwan, R.O.C.

³ Taiwan Agricultural Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan, Taichung, R.O.C

ABSTRACT

Emblica (*Phyllanthus emblica* L.) is mainly used as a traditional fruit tree in Taiwan. In recent years, attention has been paid to its health effects such as blood sugar regulation. We are currently undergoing integration research and development of the functional chain of *emblica*. Drying and storage procedure after fruit harvest was part of it. In this study, three different fruit size lines TS01, TT01, and MG03 were used for freeze-drying, 40, 60, 80, and 100°C hot air drying treatments to evaluate the effect drying temperature on vitamin C, total polyphenols, total flavonoids content, and ORAC (oxygen radical absorption capacity) antioxidant capacity. The results showed that with the drying temperature elevated, the content of vitamin C decreased. But drying temperature had no significant effect on the total polyphenols and total flavonoids content. Total polyphenols, total flavonoids, and ORAC antioxidant capacity were among the three significantly positively correlated. The small fruit MG03 line had the highest total polyphenols and total flavonoids content, but also had the best ORAC antioxidant performance. The effect of different drying treatments on the content of index chemical ingredients in the MG03 line was further compared. The results showed that there were extinctions between the eight chemical ingredients such as gallic acid and β -glucogallin. With increasing temperature, the contents of gallic acid, mucic acid dimethyl ester 2-O-gallate and 1-O-trans-cinnamoyl- β -D-glucopyranose increased, while the contents of β -glucogallin and methyl gallate decreased. But different drying treatments did not revealed significant effect on inhibition of α -glucosidase activity (IC_{50} 0.36-0.49 μ g/mL). The freeze-dried materials and crude extracts of MG03 line were stored at 4°C for 6 months. The β -glucogallin content was the highest in the 0th storage month and then decreased after storage, but there was no significant difference between 4 and 6 months. As freeze-dried

materials stored, there no significant effect on the inhibition of α -glucosidase activity (IC_{50} 1.93-2.23 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 6 months, but the crude extract had poorer inhibitory capacity after 2 to 6 months of storage. Therefore, it is still advisable to preserve the dry fruit type for subsequent milling or extraction applications in the industry.

Keywords: *Phyllanthus emblica* L., drying temperature, storage, gallic acid, β -glucogallin