

• 方药研究 •

刺葡萄皮多酚提取工艺优化及其抗氧化活性研究 *

金晓敏, 朱彩云, 夏道宗[△], 侯思瑶, 杨晓晨, 方月娟

(浙江中医药大学药学院, 浙江 杭州 310053)

摘要: 目的 优化刺葡萄皮多酚的提取工艺, 测定刺葡萄皮中多酚物质的体外抗氧化活性。方法 在单因素实验的基础上, 通过正交试验优化超声辅助提取刺葡萄皮多酚的工艺, 并通过与 Vc(或 EDTA)对比, 测定其清除 ABTS⁺自由基、DPPH 自由基、OH 自由基的能力, 亚铁离子螯合能力及对大鼠脑匀浆脂质过氧化的影响, 对刺葡萄皮多酚的抗氧化活性进行综合研究。结果 超声辅助提取刺葡萄皮多酚的最佳工艺参数为: 乙醇浓度 40%, 料液比 1:14, 超声功率 225W, 提取时间 40min; 该条件下的提取量是 16.823 mg/g。刺葡萄皮多酚的体外抗氧化试验表明其对 ABTS⁺自由基、DPPH 自由基有较强的清除能力, 对清除 OH 自由基、亚铁离子的螯合和抑制大鼠脑匀浆脂质过氧化的能力较弱。结论 本研究表明在该优化工艺下提取的刺葡萄皮多酚具有抗氧化活性, 但是比 Vc 偏弱。

关键词: 刺葡萄皮; 多酚; 提取; 抗氧化

中图分类号: R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2723(2016)01-0021-06

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2016.01.006

刺葡萄 [*Vitis davidii* (Rom.Caill.) Foëx] 为葡萄科葡萄属下的一个变种, 它的果实酸甜、风味浓。我国传统医学认为: 刺葡萄具有行气、活血、消积等功效, 主治吐血、腹胀症积、筋骨伤痛等病^[1]。目前刺葡萄多作为鲜食品种栽培, 但因其果粒小、果皮厚、种子多, 其加工制汁以及从果皮、种子提取天然活性物质的前景可能更为广阔^[2]。

葡萄多酚属于植物多酚中的一大类, 酚类化合物具有多种生理功能, 包括改善心血管疾病、防癌、抗氧化、抗肿瘤、抗辐射、抗病毒、抗高血糖、降血脂、调节抗氧化酶系的表达及抗炎等多种生理功能^[3]。国内关于多酚的提取工艺主要有热浸提法、超声辅助提取、微波辅助提取、以及超临界萃取法^[4-7], 而国外的主要方法也涉及到了超声辅助提取^[8]。虽然目前关于刺葡萄的研究已不在少数, 如 Jiang-Fei Meng^[9]等人研究了刺葡萄酒中多酚的类别与分布, 邓洁红^[10]等人研究了刺葡萄皮中花色苷的分离和检定, 而从文献中我们也了解到与我国的毛葡萄、美国的圆叶葡萄以及欧洲葡萄相比, 刺葡萄皮中的多

酚含量最高^[11], 但是关于刺葡萄皮中多酚的提取却没有一个系统的提取工艺。

本文采用单因素、正交试验优化超声辅助提取刺葡萄皮多酚的工艺, 并通过测定其清除 ABTS⁺自由基、DPPH 自由基和 OH 自由基的能力, 结合亚铁离子螯合能力以及对大鼠脑匀浆脂质过氧化的影响, 从化学、生物学角度对刺葡萄皮多酚的抗氧化活性进行综合研究, 从而提高刺葡萄的利用价值, 为进一步利用和研究刺葡萄提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

刺葡萄, 采自湖南省怀化市麻阳县高山刺葡萄园; 福林酚试剂: 生化试剂, 国药集团化学试剂有限公司; 1,1-二苯基-2-苦基苯肼(DPPH)、二铵盐自由基(ABTS)、菲啰嗪-D-脱氧核糖: 美国 Sigma-Aldrich 公司; 乙醇、没食子酸、无水碳酸钠、双氧水、氢氧化钠、抗坏血酸、FeSO₄、KH₂PO₄、三氯乙酸、硫代巴比妥酸、EDTA-2Na、过硫酸钾等化学试剂均为化学分析纯。

* 基金项目: 国家自然科学基金(81374048); 国家级大学生创新创业训练计划项目(201410344008); 浙江省大学生科技创新活动计划暨新苗人才计划(2014R410003); 浙江中医药大学 2014 年学生科研基金(浙中大团[2014]3 号)

收稿日期: 2015-10-12

作者简介: 金晓敏(1992-), 女, 浙江桐乡人, 在读硕士研究生, 主要从事天然产物研究与开发。

△通信作者: 夏道宗, E-mail: xiadaozong@zcmu.edu.cn

FW135 型中草药粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司);SHZ-D(Ⅲ)循环水式多用真空泵(河南省予华仪器有限公司);FA2004 型电子天平(上海青海仪器有限公司);G2X-9070MBE 数显鼓风干燥箱(上海博讯实业有限公司医疗设备厂);KQ-250DE 数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);UV-2800 型紫外可见分光光度计(上海尤尼柯仪器有限公司);冷冻干燥机(北京博医康实验仪器有限公司);TDL-5-A 台式离心机(上海安亭科学仪器厂制造);旋转蒸发仪(上海亚荣生物仪器厂)。

1.2 实验方法

1.2.1 样品的制备

将新鲜的刺葡萄皮放入烘箱中干燥后将其打粉,过 60 目筛后备用。

1.2.2 多酚含量的测定

没食子酸标准曲线的制备(Folin-Ciocalteu 法):将李俶^[12]等人使用的方法进行改进,方法如下:用 5 mL 无水乙醇溶解 0.2500 g 没食子酸,定容至 50 mL。用移液管分别移取 0.5,1.0,1.5,2.5,5.0 mL 于 50 mL 容量瓶中,然后用蒸馏水定容,得到没食子酸的浓度分别为 50,100,150,250,500 mg/L。分别移取 0.5 mL 不同浓度的标准溶液于 50 mL 的容量瓶中,再分别加入 30 mL 蒸馏水,混合,加入 2 mL 福林酚试剂,再次混合后,在 3~8 min 内,分别加入 8 mL 10% 的 Na₂CO₃ 溶液,混合后定容。将制好的标准溶液在室温避光条件下静置 2 h,用紫外分光光度计对其在波长为 760 nm 处测定吸光度,同时做空白对照。按照横坐标为浓度,纵坐标为吸光度值来进行标准曲线的绘制。

刺葡萄皮多酚含量测定:准确称取已过 60 目筛的刺葡萄皮粉 1g,加入一定量一定浓度乙醇,于一定超声功率下提取,一定时间后,将其进行真空抽滤并在 3 000 r/min 下进行离心,用移液管移取 0.5 mL 上清液置于 50 mL 容量瓶中,按照标准曲线制备的方法对其进行处理。将处理好的样品溶液用蒸馏水稀释 5 倍后在 760 nm 处测定吸光度,并且根据标准曲线方程以及下面的公式(1)计算出刺葡萄皮中多酚的提取量^[13]。

$$W = \frac{C \times N \times V}{M} \quad \text{公式(1)}$$

W——多酚提取量,mg/g;

C——没食子酸浓度,mg/mL;

N——稀释倍数;

V——提取液体积,mL;

M——样品质量,g。

1.2.3 单因素试验

分别考察乙醇浓度、料液比、超声时间、超声功率四个因素对多酚提取量的影响。

①乙醇浓度:精确称取 1 g 刺葡萄皮粉,根据料液比为 1:14 分别加入 30%,40%,50%,60%,70% 乙醇溶液,在 250 W 下超声提取 30 min,计算总多酚提取量。

②料液比:精确称取 1 g 刺葡萄皮粉,分别根据 1:10,1:12,1:14,1:16,1:18 的料液比加入 50% 乙醇溶液,在 250 W 下超声提取 30 min,计算总多酚提取量。

③超声时间:精确称取 1 g 刺葡萄皮粉,根据料液比 1:14 分别加入 50% 乙醇溶液,在 250 W 下分别超声 10,20,30,40,50 min 提取,计算总多酚提取量。

④超声功率:精确称取 1 g 刺葡萄皮粉,以料液比 1:14 分别加入 50% 乙醇溶液,分别在功率为 125,150,175,200,225,250 W 下分别超声提取 30 min,计算总多酚提取量。

1.2.4 正交试验

根据单因素实验的结果,对料液比、超声功率、乙醇浓度以及超声时间 4 个因素进行 4 因素 3 水平正交试验。见表 1。

表 1 正交试验因素水平表

| 水平 | 因素 | | | |
|----|------------|--------|--------|----------|
| | 料液比/(g/mL) | 超声功率/W | 乙醇浓度/% | 超声时间/min |
| 1 | 1:12 | 200 | 40 | 20 |
| 2 | 1:14 | 225 | 50 | 30 |
| 3 | 1:16 | 250 | 60 | 40 |

1.2.5 体外抗氧化实验

将刺葡萄皮多酚配制成 8 个浓度梯度:1 000,500,250,100,50,25,10,5 μg/mL。阳性对照抗坏血酸的配制(1mg/mL):称取 10.0 mg 抗坏血酸,用蒸馏水定容至 10mL,浓度为 1000 μg/mL,然后依次稀释成 500,250,100,50,25,10,5 μg/mL 的系列浓度。

1.2.5.1 清除 ABTS⁺自由基能力的测定^[14]

分别取 25 mL 的 7 mmol/L ABTS 和 2.45 mmol/L

过硫酸钾混合,将其在室温、避光(棕色试剂瓶)的条件下静置16 h,形成ABTS⁺自由基的储备液。使用前用70%的乙醇将其稀释形成工作液,要求其在30℃、734 nm波长下的吸光度为(0.7±0.02)。0.0875 ABTS分析溶液:取1 mL混匀的ABTS储液,加入50 mL 70%乙醇,避光保存。

样品测定: 分别取0.4 mL不同浓度的样品溶液,加入3.6 mL 0.0875 mmol/L ABTS溶液,漩涡混合后在暗处静置10 min,测定734 nm的吸光值。对照管用0.4 mL 70%乙醇来替代样品。根据公式(2)计算清除率,并求取试样清除ABTS⁺自由基的IC₅₀。

$$\text{清除率} = \left(1 - \frac{\text{样品管 } A_{734}}{\text{对照管 } A_{734}}\right) \times 100\% \quad \text{公式(2)}$$

1.2.5.2 清除DPPH自由基能力的测定^[15]

根据贾荣^[15]稍作修改,准确称取20 mg DPPH,并用无水乙醇溶解配制成2×10⁻⁴ mol/L的溶液。取等体积(2 mL)待测液以及2×10⁻⁴ mol/L DPPH溶液加入同一具塞试管中,并摇匀。室温下避光放置30 min后,在波长517 nm下用无水乙醇做参比来测定其吸光度值A_i,同时测定2×10⁻⁴ mol/L DPPH溶液与等体积无水乙醇(2 mL)混合液的吸光度A_c,以及待测液(2 mL)与等体积无水乙醇混合液的吸光度A_j。根据公式(3)来计算清除率,并求取试样清除DPPH自由基的IC₅₀。

$$\text{清除率} = \frac{1 - (A_i - A_j)}{A_c} \times 100\% \quad \text{公式(3)}$$

1.2.5.3 清除OH自由基能力的测定^[16]

按刘冉^[16]稍作改动,取0.1 mL不同浓度的样品水溶液,加入0.690 mL 20 mmol/L pH 7.4的KH₂PO₄-KOH缓冲液(含2.5 mmol/L 2-脱氧核糖),然后再加入0.1 mL预先混合的1.0 mmol/L硫酸亚铁和1.04 mmol/L EDTA(1:1体积混合)。加入0.1 mL 1.0 mmol/L的抗坏血酸和0.01 mL 0.1 mol/L H₂O₂启动反应,37℃下温浴30 min。取出后分别加入1 mL的1%硫代巴比妥酸和2.8%三氯乙酸,在95℃下反应15 min以产生颜色。取出立即冷却,在波长532 nm下测吸光值。对照管以0.1 mL蒸馏水代替样品。根据公式(4)来计算清除率。

$$\text{清除率} = \left(1 - \frac{\text{样品管 } A_{532}}{\text{对照管 } A_{532}}\right) \times 100\% \quad \text{公式(4)}$$

1.2.5.4 亚铁离子螯合能力^[17]

取0.2 mL不同浓度的样品溶液,加入0.2 mL 50 μmol/L FeSO₄和1.4 mL 0.15 mol/L NaCl溶液,

再加入0.2 mL 300 μmol/L 菲啰嗪启动反应,剧烈振摇后,在室温下放置10 min。测定562 nm的吸光值,若吸光值越低,表示其对铁离子的螯合能力越强。空白管用0.2 mL 0.15 mol/L NaCl来代替菲啰嗪。根据公式(5)来计算螯合率。

$$\text{亚铁离子螯合率} = \frac{1 - (\text{样品管 } A_{562} - \text{空白管 } A_{562})}{\text{对照管 } A_{562}} \times 100\% \quad \text{公式(5)}$$

1.2.5.5 对大鼠脑匀浆脂质过氧化的影响^[18]

根据熊何健^[18]方法稍作修改,采用大鼠脑匀浆来测定刺葡萄皮多酚抑制脂质过氧化的能力,大鼠处死后,在冰台上快速取脑,进行称重,然后加10倍量生理盐水匀浆,制备10%脑匀浆液。取10%新鲜脑匀浆0.6 mL,加0.4 mL生理盐水后,漩涡混匀,然后加入0.3 mL不同浓度的样品溶液,再分别加入0.3 mL的1 mmol/L Fe₂SO₄和10 mmol/L H₂O₂,在37℃下水浴1 h后,加入1 mL 15%三氯乙酸终止反应,3 000 r/min离心15 min,得上清液,取1.5 mL上清液,加入1.0 mL 1%的硫代巴比妥酸,在100℃下反应15 min。冷却,用分光光度计测定在532 nm的吸光值。对照管以0.3 mL的蒸馏水代替样品。根据公式(6)来计算抑制率。

$$\text{脂质过氧化抑制率} = \frac{1 - \frac{\text{样品管 } A_{510}}{\text{对照管 } A_{510}}}{\text{对照管 } A_{510}} \times 100\% \quad \text{公式(6)}$$

2 结果与讨论

2.1 回归方程的确立

以没食子酸标准溶液的浓度为横坐标,吸光度A作为纵坐标,绘制标准曲线,通过计算得没食子酸标准曲线回归方程为:y=1.2918x+0.0004 (R²=0.9997)

2.2 单因素试验结果和分析

2.2.1 料液比对多酚提取量的影响

料液比对刺葡萄皮多酚提取量的影响如图1所示。从图中可以看出,随着料液比的增加,刺葡萄

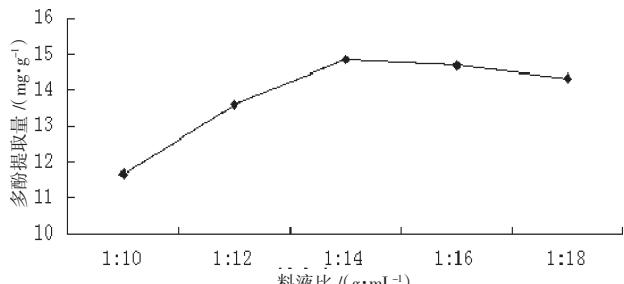


图1 料液比对多酚提取量的影响

皮多酚提取量呈先上升后下降趋势。从实验结果来看,当料液比为 1:14,提取量达最大值。

2.2.2 乙醇浓度对多酚提取量的影响

乙醇浓度对刺葡萄皮多酚提取量的影响如图 2 所示。从图中可以看到,随着乙醇浓度的不断增加,多酚的提取量呈先上升后下降趋势。当乙醇浓度达到 50% 左右时,提取量取得最大值。导致这一现象的原因可能是由于乙醇浓度的升高导致部分多酚物质不能很好地溶解在乙醇溶液中,从而导致提取量的降低。从实验结果来看,乙醇浓度的最佳条件为 50%。

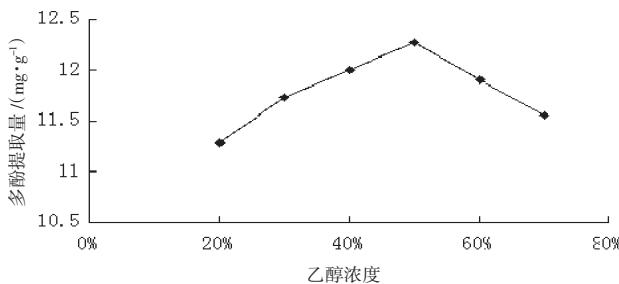


图 2 乙醇浓度对多酚提取量的影响

2.2.3 超声时间对多酚提取量的影响

超声时间对刺葡萄皮多酚提取量的影响如图 3 所示。随着超声时间的不断增长,刺葡萄皮多酚提取量先是显著性升高,到 30 min 时提取量最大,然后是缓慢下降。这可能是因为随着时间的延长,多酚在提取过程中被氧化的部分逐渐增多,导致提取量减少。图中明显看出最佳超声时间为 30min。

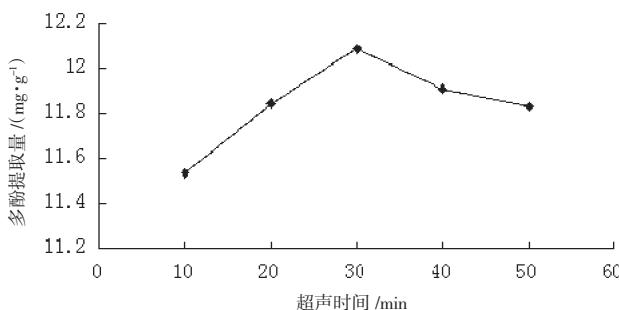


图 3 超声时间对多酚提取量的影响

2.2.4 超声功率对多酚提取量的影响

超声功率对多酚提取量的影响如图 4 所示。由图可知,随着超声功率的增大,刺葡萄皮多酚的提取量先是迅速增长然后变得缓慢,且趋势不断趋于平缓。由此可见超声功率最佳条件为 225 W。

2.3 正交试验结果

根据单因素实验的结果,对料液比、超声功率、

乙醇浓度以及超声时间四个因素进行四因素三水平正交试验。见表 2。

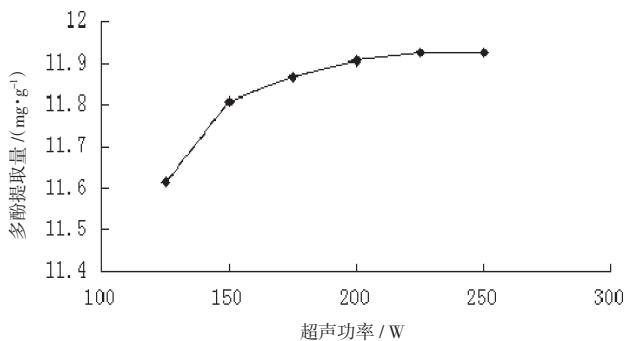


图 4 超声功率对多酚提取量的影响

表 2 正交试验方案和结果

| 试验号 | 因素 | | | | 结果 多酚提取量 I/(mg/g) |
|-------|------------|-------------|-------------|-------------|-------------------------|
| | 料液比 (A) | 超声功率 (B) | 乙醇浓度 (C) | 超声时间 (D) | |
| 1 | 1:12 | 200 | 40% | 20 | 14.263 |
| 2 | 1:12 | 225 | 50% | 30 | 14.469 |
| 3 | 1:12 | 250 | 60% | 40 | 13.978 |
| 4 | 1:14 | 200 | 50% | 40 | 15.329 |
| 5 | 1:14 | 225 | 60% | 20 | 15.643 |
| 6 | 1:14 | 250 | 40% | 30 | 16.356 |
| 7 | 1:16 | 200 | 60% | 30 | 13.783 |
| 8 | 1:16 | 225 | 40% | 40 | 15.912 |
| 9 | 1:16 | 250 | 50% | 20 | 14.984 |
| k_1 | 14.237 | 14.458 | 15.510 | 14.963 | |
| k_2 | 15.776 | 15.341 | 14.927 | 14.869 | |
| k_3 | 14.893 | 15.106 | 14.468 | 15.073 | |
| R | 1.539 | 0.883 | 1.042 | 0.204 | |
| 优水平 | A_2 | B_2 | C_1 | D_3 | |

表 3 方差分析表

| 方差来源 | 离差平方和 | 自由度 | 均方 | F 值 | P 值 |
|-------|--------|-----|--------|-------|-------|
| A | 3.5796 | 2 | 1.7898 | 57.36 | <0.05 |
| B | 1.2546 | 2 | 0.6273 | 20.11 | <0.05 |
| C | 1.6371 | 2 | 0.8186 | 26.24 | <0.05 |
| D(误差) | 0.0624 | 2 | 0.0312 | | |

注: $F_{0.10}(2,2)=9.0$; $F_{0.05}(2,2)=19.0$; $F_{0.01}(2,2)=99.0$

极差 R 值反映了各因素对多酚提取量影响的大小,正交试验结果表明,料液比对刺葡萄皮中提取量的影响最大,其次是乙醇浓度、超声功率和超声时间,适宜的提取工艺条件为 $A_2B_2C_1D_3$ 。方差分析

* 表 3)表明料液比、乙醇浓度和超声功率对多酚提取量均具有显著性影响。

2.4 验证实验结果

称取 1 g 刺葡萄皮粉, 按最佳工艺 $A_2B_2C_1D_3$ 进行提取, 进行 3 次验证实验, 其平均提取量为 (16.823 ± 0.0028) mg/g, 比正交实验中含量最高的一组高出 0.467 mg/g, 表明通过正交试验选择出的最佳提取工艺科学合理。

2.5 体外抗氧化实验

2.5.1 清除 ABTS⁺自由基能力

由图 5 所示, 刺葡萄皮多酚可以显著抑制 ABTS⁺自由基的产生, 在一定范围内具有一定的量效关系, 其 IC_{50} 为 $68.51 \mu\text{g}/\text{mL}$, 而用于阳性对照的 Vc 的 IC_{50} 为 $16.60 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。其清除 ABTS⁺自由基的能力比 Vc 略小, 具有比较强的清除 ABTS⁺自由基能力。

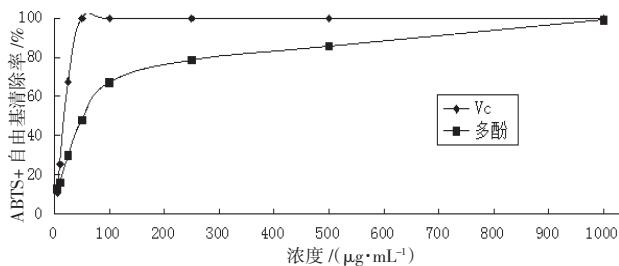


图 5 刺葡萄皮多酚对 ABTS⁺自由基的清除能力

2.5.2 清除 DPPH 自由基能力

由图 6 所示, 刺葡萄皮多酚能够有效地抑制 DPPH 自由基的产生, 在一定范围内具有一定的量效关系, 其 IC_{50} 为 $41.24 \mu\text{g}/\text{mL}$, 而用于阳性对照的 Vc 的 IC_{50} 为 $7.30 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。其清除 DPPH 自由基的能力比 Vc 略小, 有较强的清除 DPPH 自由基的能力。

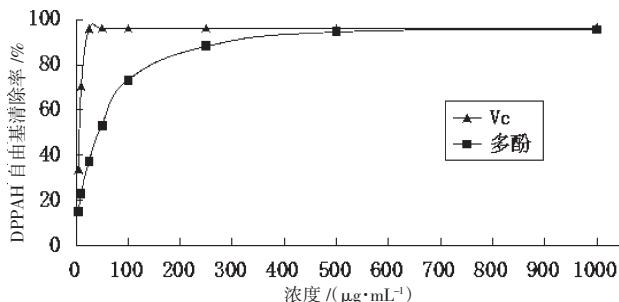


图 6 刺葡萄皮多酚对 DPPH 自由基的清除能力

2.5.3 清除 OH 自由基能力

由图 7 所示, 刺葡萄皮多酚具有清除 OH 自由基的能力, 在一定范围内具有一定的量效关系, 其 IC_{50} 为 $428.35 \mu\text{g}/\text{mL}$, 而用于阳性对照的 Vc 的 IC_{50}

为 $95.06 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。其清除 OH 自由基的能力比 Vc 小, 但还是具有一定的清除 OH 自由基能力。

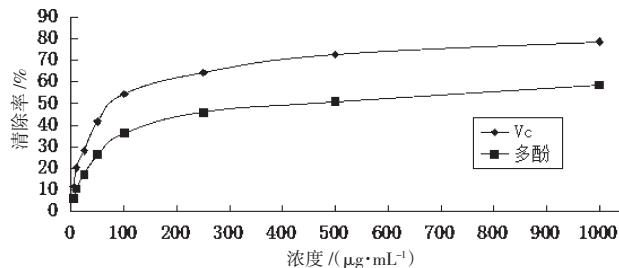


图 7 刺葡萄皮多酚对 OH 自由基的清除能力

2.5.4 亚铁离子螯合能力

由图 8 所示, 刺葡萄皮多酚具有亚铁离子螯合能力, 在一定范围内具有一定的量效关系, 其 IC_{50} 为 $959.40 \mu\text{g}/\text{mL}$, 而用于阳性对照的 EDTA 的 IC_{50} 为 $6.35 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。其亚铁螯合能力与 EDTA 相比较弱。

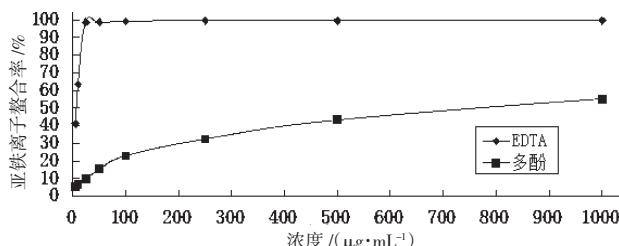


图 8 刺葡萄皮多酚对亚铁离子的螯合能力

2.5.5 抑制大鼠脑匀浆脂质过氧化的能力

由图 9 所示, 刺葡萄皮多酚具有清除大鼠脑匀浆脂质过氧化能力, 在一定范围内具有一定的量效关系, 其 IC_{50} 为 $599.79 \mu\text{g}/\text{mL}$, 而用于阳性对照的 Vc 的 IC_{50} 为 $92.78 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。其抑制脂质过氧化能力比 Vc 小, 但还是有一定的抑制脂质过氧化能力。

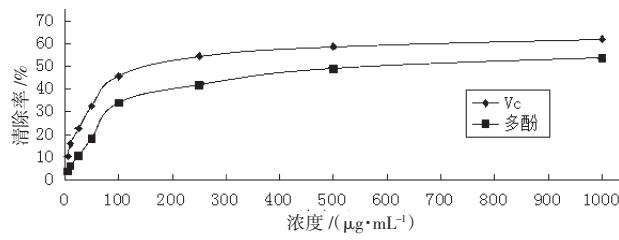


图 9 刺葡萄皮多酚对大鼠脑匀浆脂质过氧化的影响

3 结论

在单因素实验的基础上, 采用正交试验法对刺葡萄皮多酚提取工艺进行优化, 超声辅助提取刺葡萄皮多酚的最佳工艺参数为: 乙醇浓度 40%, 料液比 1:14, 超声功率 225 W, 提取时间 40 min, 提取量最高达 16.823 mg/g 。刺葡萄皮多酚的体外抗氧化试验表明其能够有效地清除 ABTS⁺自由基和 DPPH 自

由基,对清除 OH 自由基的能力,与亚铁离子螯合能力和脂质抗氧化的能力不强,但还是具有一定效果的。多酚物质抗氧化能力的差异可能与其中含有的多酚的种类和含量有关。与其他抗氧化性较强的多酚物质相比,此研究对开发刺葡萄皮多酚具有一定的科学参考价值。

参考文献:

- [1] 田瑞彪, 龙声平. 因地制宜发展特色农业 [J]. 湖南农业, 2004(6):4.
- [2] 王仁才. 刺葡萄天然功效成分的提取、药理评价及果汁加工研究[D]. 长沙:湖南农业大学, 2006.
- [3] Xu CM, Zhang YL, Cao L, et al. Phenolic compounds and antioxidant properties of different grape cultivars grown in China[J]. Food Chemistry, 2010, 119(4):1557–1565.
- [4] 王颖, 王国红, 邓红梅, 等. 葡萄皮中多酚类化合物提取工艺的优化[J]. 湖北农业科学, 2013, 52(15):3622–3627.
- [5] 袁竹连. 超声波辅助提取番木瓜籽多酚的工艺研究[J]. 河南农业科学, 2013, 42(5):173–176.
- [6] 文春娟, 陈祥贵, 饶夙, 等. 微波辅助提取石榴皮多酚工艺研究[J]. 食品与机械, 2011, 27(6):103–106.
- [7] 刘杰超, 张春岭, 刘慧, 等. 超临界 CO₂萃取枣核多酚工艺优化及其生物活性[J]. 食品科学, 2013, 34(22):64–69.
- [8] Both S, Chemat F, Strube J. Extraction of polyphenols from black tea—conventional and ultrasound assisted extraction[J]. Ultrason Sonochem, 2014, 21(3):1030–1034.
- [9] Meng JF, Xu TF, Qin MY, et al. Phenolic characterization of young wines made from spine grape (*Vitis davidii* Foex) grown in Chongyi County (China)[J]. Food Research International, 2012, 49(2):664–671.
- [10] 邓洁红, 谭兴和, 王锋, 等. 刺葡萄皮花色苷的分离及检测[J]. 中国食品学报, 2010, 10(1):200–206.
- [11] 赵竟, 景浩. 不同品种葡萄皮、籽提取物多酚含量及抗氧化能力的比较研究 [J]. 食品工业科技, 2009 (10):154–158.
- [12] 李淑, 沈佩仪, 吴华星, 等. 超声波提取菠萝皮渣中多酚类物质的研究[J]. 食品与机械, 2011, 27(2):55–58.
- [13] 王凤舞, 郭丽萍, 张晶, 等. 超声辅助法提取猕猴桃多酚的工艺研究[J]. 食品科技, 2013, 38(1):210–214.
- [14] Srinivasan R, Chandrasekar MJ, Nanjan MJ, et al. Antioxidant activity of *Caesalpinia digyna* root[J]. J Ethnopharmacol, 2007, 113(2):284–291.
- [15] 贾荣. 山葡萄籽多酚提取物及抗氧化活性的研究[D]. 长春:吉林大学, 2010.
- [16] 刘冉, 王振宇, 卢静. 两种松科植物松多酚体外抗氧化活性评价[J]. 食品工业科技, 2013, 34(4):159–162.
- [17] 刘琼, 夏道宗, 叶晓萍, 等. 安吉白茶含片的制作及其抗氧化活性评价 [J]. 食品工业科技, 2012, 33 (18):245–257.
- [18] 熊何健, 周常义, 郑新阳. 葡萄籽多酚对高脂膳食小鼠降血脂和抗氧化功能的影响 [J]. 江西农业学报 2008, 20 (1):105–107.

(编辑:杨阳)

Study on the Extraction and Antioxidant Activity of Total Phenolic Compounds from the Spine Grape [*Vitis davidii* (Rom. Caill.) Foëx] Peel

JIN Xiaomin, ZHU Caiyun, XIA Daozong, HOU Siyao, YANG Xiaocheng, Fang Yuejuan
(College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

ABSTRACT: Objective Optimization the extraction technology of total phenolic compounds from the spine grape (*Vitis davidii* (Rom. Caill.) Foëx) peel, and determine its antioxidant activity. Methods The extraction technology of total phenolic compounds from the spine grape peel was studied by single-factor experiments and orthogonal test design. Furthermore, the antioxidant activities of spine grape peel were compared with Vc (or EDTA), using various antioxidant assays included the scavenging on ABTS⁺, DPPH and OH free radicals, ferrous ion-chelating capacity and influence on lipid peroxidation in rats. Results The optimum extraction conditions determined by orthogonal experiment as follows: ethanol concentration 40%, solid-liquid ratio was 1:14, ultrasonic power 225 W and extraction time 40 min. The extraction quantity of total phenolic compounds under this condition was 16.823 mg/g. It has strong scavenging activity on ABTS⁺ and DPPH, while weak scavenging activity on OH free radicals, ferrous ion-chelating capacity and inhibiting the brain lipid peroxidation in rats. Conclusion This study suggested that spine grape peel has antioxidant activity under the optimal extraction technology, but it's weaker than Vc.

KEY WORDS: spine grape peel; total phenolic compounds; extraction; antioxidant activity