2015-08-25 DOI: 10.3724/SP.J.1145.2015.01047 http://www.cibj.com/
应用与环境生物学报 *Chin J Appl Environ Biol* 2015, **21** (4): 623-628

金钗石斛总多酚提取工艺及体外抗氧化活性*

费 雯[1] 淳 泽[2] 何沁嶷[1] 王淼雨[1] 罗傲雪[1**] 范益军[1**]
[1]四川农业大学风景园林学院 成都 611130
[2]中国科学院成都生物研究所 成都 610041

摘 要 金钗石斛(*Dendrobium nobile*)具有多种保健作用,药用价值突出. 通过Box-Behnken响应面分析法,研究金钗石斛总多酚的最佳提取工艺,并评估其体外抗氧化活性. 采用溶剂法提取总多酚,在单因素实验基础上,利用Box-Behnke响应面分析法对pH值、乙醇浓度和料液比等参数进行优化,寻找最佳工艺. 抗氧化活性以Vc为阳性对照,通过体外自由基清除实验评价金钗石斛总多酚的抗氧化活性. 结果显示,当乙醇浓度为72%(*V*/*V*),料液比为1:51(g/mL),pH值为3时金钗石斛总多酚提取效率最高,为86.2%. 体外抗氧化实验显示,金钗石斛总多酚对ABTS、DPPH自由基和羟基自由基活性均有不同程度的清除作用,其清除能力与总多酚质量浓度呈正相关,在浓度为5 mg/mL时对ABTS(Agreement on Basic Telecommunication Services)、DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)、羟自由基3种自由基的清除率分别为100%、78.54%和49.1%. 本研究通过响应面法得到了提取得率及多酚含量较高的金钗石斛总多酚最优提取工艺条件,且得到的金钗石斛总多酚有良好的抗氧化能力. 图3 表4 参25

关键词 金钗石斛;多酚;响应面法;抗氧化
CLC Q949.718.430.6

Extraction conditions and *in vitro* antioxidant activities of polyphenols from *Dendrobium nobile**

FEI Wen[1], CHUN Ze[2], HE Qinyi[1], WANG Miaoyu[1], LUO Aoxue[1**] & FAN Yijun[1**]
[1]*Department of Landscape Plants, Sichuan Agriculture University,* Chengdu 611130, China
[2]*Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences,* Chengdu 610041, China

Abstract *Dendrobium nobile* has various health care functions and therefore of prominent medicinal value. This study aimed to find out optimal extraction conditions of polyphenols from *Dendrobium nobile* and to understand their antioxidant activity *in vitro*. With a single-factor experiment, the main parameters affecting the yield of phenolics were defined, including the pH of solvent, ethanol concentration and ratio of water to raw material. The antioxidant activities of the total polyphenols extract were evaluated by ABTS radicals, DPPH radicals and hydroxyl radicals using Vc as control. The optimal extraction parameters for total polyphenols yield were ethanol concentration 72% (*V*/*V*), ratio of water to raw material as 1:50 (g/mL), pH of 3, to obtain an extraction yield of total phenolic of 0.862. With the concentration of total phenolic from *Dendrobium nobile* as 5 mg/mL, the radical scavenging activity in clearing ABTS, DPPH and OH free radicals was 100%, 78.54% and 49.1%, respectively. The results suggested that response surface methodology is applicable for optimizing extraction conditions of total polyphenols from *Dendrobium nobile,* and that the total polyphenols from *Dendrobium nobile* have good scavenging activity in a close-dependent manner.

Keywords *Dendrobium nobile*; polyphenols; response surface methodology; antioxidant

金钗石斛(*Dendrobium nobile*)是兰科(Orchidaceae)石斛属(*Dendrobium*)植物,是中国药典[1]收录的名贵石斛属药用植物之一,可用于预防和治疗白内障、糖尿病、肿瘤等[2-4]. 现代药理研究发现,金钗石斛中包含许多具有药理和临床疗效的次生代谢产物如生物碱、酚性化合物、挥发油和多糖等[5],其中生物碱和多糖近年来研究较多,而对其多酚化合物的制备工艺及相关生物活性的研究目前较少. 对于植物多酚的提取工艺优化,传统方法是采用正交设计或均匀设计,这种方法不能在给出的整个区域上找到因素和响应值之间的一个明确的函数表达式,从而无法找到整个区域上的因素的最佳组合和响应的最优值[6]. 而BBD(Box-Benkhen)设计是采用多元二次方程来拟合因素和效应值之间的函数关系,通过对回归方程的分析来寻求最优工艺参数,解决多变量问题的一种统计方法,该方法能用更少的实验次数描述过程变量的交互影响[7].

研究认为多酚化合物大多具有抗氧化、抗菌、抗癌[8-9]等多重药用价值,对于人类的健康具有积极作用,其中最受人关注的是它的抗氧化和清除自由基的活性[10]. 目前有文献报道石斛中含多酚类化合物,但没有对其多酚抗氧化活性进行验证的报道. 因此,本研究采用Box-Benkhen设计优化金钗

收稿日期 Received: 2015-01-22 接受日期 Accepted: 2015-03-03
*四川省教育厅重点项目(12ZA274)资助 Supported by the Education Department Foundation of Sichuan Province (12ZA274)
**通讯作者 Corresponding author (E-mail: aoxueluo@sina.com; yijfan@126.com)

石斛中总多酚提取条件，并对金钗石斛中的多酚化合物进行体外自由基清除实验，初步分析其抗氧化活性，以期寻找金钗石斛抗氧化活性的物质基础.

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 试验材料 金钗石斛购自云南普洱，于60 ℃下烘干备用.

1.1.2 药品与仪器 ABTS自由基（Merck公司）；福林酚试剂（Folin-Ciocalteu's phenol Reagent）（上海研域生物科技有限公司）；羟自由基试剂盒（南京建成生物工程研究所）；DPPH自由基（Sigma-Aldrich公司）；没食子酸、乙醇、甲醇、丙酮、碳酸钠及其他试剂（四川瑞进特有限公司）.

紫外可见分光光度计（上海美谱达仪器有限公司）；电子分析天平（奥斯豪仪器有限公司）；旋转蒸发仪（上海亚荣生化仪器）；高速粉碎机（永康市久品工贸有限公司）；HY-3型调速振荡机（常州国华电器有限公司）；DHG-9245型电热恒温鼓风干燥机（上海一恒科技有限公司）.

1.2 实验方法

1.2.1 样品制备 将新鲜金钗石斛茎清洗、烘干、粉碎成粉末备用. 取制金钗石斛粉末置于容量瓶中，按实验设定的参数室温震荡提取.

1.2.2 样品中多酚含量的测定 准确称取没食子酸标准品0.250 g，加水定容，即得质量浓度为0.050 mg/mL没食子酸标准储备液. 精密量取没食子酸标准储备液1.00、2.00、4.00、6.00、8.00、10.00 mL于100 mL容量瓶中，蒸馏水定容，配成标准系列. 分别吸取标准系列溶液1.00 mL于比色管中，加入0.3 mL FC（Folin-Ciocalteu's phenol Reagent）试剂，混匀，再加入1.5 mL 20%碳酸钠溶液，加水定容至10 mL，充分振摇，室温下静置20 min [11]. 以试剂空白作参比，用1 cm比色皿测定波长760 nm 处的吸光度. 以测得的吸光度为纵坐标（y）、没食子酸溶液的质量浓度为横坐标（x，μg/mL）绘制标准曲线[12-13]，得到线性回归方程$y = 11.383x - 0.0046$，$R^2 = 0.9952$.

取金钗石斛多酚提取液1.00 mL于比色管中，加入0.3 mL FC试剂，混匀，再加入1.5 mL的20%碳酸钠溶液，加水定容至10 mL，充分振摇，室温下静置20 min. 以试剂空白作参比，用1 cm比色皿测定波长760 nm处的吸光度，根据标准曲线回归方程计算多酚得率.

1.2.3 因素和水平的确定 经查阅文献[14-17]和预实验后，确定对溶剂类型、料液比、提取时间、溶剂pH值、溶剂乙醇浓度等5个因素进行单因素实验，以筛选出对总多酚的提取有显著影响的因素，并确定Box-Behnken实验设计的水平.

1.2.4 响应面实验设计 采用Design-Expert 8软件对实验进行三因素三变量的Box-Behnken实验设计，如表1所示，将本研究选择的3个独立变量指定为X_1、X_2、X_3和将3个水平编码规定为+ 1、0、−1，分别对应高值、中间值和低值.

1.2.5 ABTS自由基清除活性 根据Re等的方法[18-19]配制ABTS反应液[7 mmol/L ABTS，2.45 mmol/L $(NHa)_2S_2O_8$]，于室温黑暗中静置16 h后，用磷酸缓冲液（5 mmol/L，pH 7.4）稀释至734 nm的吸光值为0.70 ± 0.02. 分别取不同浓度的（0.16-5.12 mg/mL）Vc和各样品液0.1 mL，加入1 mL的ABTS溶液，充分混合，室温放置20 min，紫外分光光度计734 nm处测定吸光度，空白对照用蒸馏水代替样品液，重复3次，按下式计算清除率：

$$清除率 = (A_{空白对照} - A_{样品}) / A_{空白对照} \times 100\%$$（A为吸光度）

1.2.6 DPPH自由基清除实验 根据Shimadae等的方法[20]称取DPPH标准品11 mg，用体积分数70%的乙醇溶解并定容至100 mL，配成0.28 mmol/L DPPH储备液，置于冰箱中备用. 分别取不同浓度（0.16-5.12 mg/mL）的Vc和各样品液0.3 mL，加入0.9 mL的DPPH溶液，室温暗反应30 min，紫外分光光度计517 nm处测定吸光度，空白对照用蒸馏水代替样品液，重复3次. 按下式计算清除率：

$$清除率 = (A_{空白对照} - A_{样品}) / A_{空白对照} \times 100\%$$（A为吸光度）

1.2.7 羟自由基清除实验 试验采用Fenton反应检测多酚的羟自由基清除能力[21]，将各样品及Vc标准品配制成浓度为5.12 mg/mL、2.56 mg/mL、1.28 mg/mL、0.64 mg/mL、0.32 mg/mL、0.16 mg/mL的样品液. 采用羟自由基试剂盒检测，紫外分光光度计550 nm处测定吸光度，空白对照用超纯水代替样品液，重复3次，计算清除率：

$$清除率 = (A_{空白对照} - A_{样品}) / A_{空白对照} \times 100\%$$（A为吸光度）

2 结果

2.1 单因素实验结果

对溶剂类型、提取时间、乙醇浓度、料液比、溶剂pH值进行的单因素实验结果见表1. 由表1可知，溶剂类型为乙醇提取率最高. 随着提取时间的增加，提取率的变化不明显，但总多酚的提取时间对提取率的影响在4 h时达到最大. 随着乙醇浓度增大，金钗石斛多酚的提取得率呈现先增加后降低的趋势，当乙醇浓度达到70%时，提取得率达到最大，此后随乙醇浓度的增大而减小. 随着溶剂比例增加，提取率增加，当料液比为1:50（g/mL）时提取率最高. 总多酚的产量随pH值的增加而增加，直到pH值达到3.0之后，产量随pH的增加而减少. 同时单因素分析显示，乙醇浓度、料液比、pH值对金钗石斛总多酚的提取影响较大.

2.2 总多酚提取工艺的优化

根据单因素试验结果确定三因素三变量的Box-Behnken实验设计，见表2. 为对总多酚的提取工艺进行优化，共进行了17组三因素实验，见表3. 通过采用Design-Expert 8软件进行多元线性回归和二项式拟合，模型通过复相关系数和方差分析进行判断，结果见表4. 得到如下多元线性回归方程：$Y = 0.86 + 0.015X_1 + 0.016X_2 - 0.018X_3 + (7.907E\text{-}003)X_1X_2 + (4.759E\text{-}003)X_1X_3 + 0.013X_2X_3 - 0.033X_1^2 - 0.059X_2^2 - 0.044X_3^2$（$X_1$、$X_2$、$X_3$分别代表乙醇浓度、料液比、pH值）.

由表 4 可知，X_1、X_2、X_3三个因素及三因素的的二次项P值均小于 0.000 1，意味着对总多酚提取工艺影响极显著. 而X_1X_2、X_2X_3的P值小于0.005，意味着对模型也非常重要. 因此，为了得到一个精致的响应面模型，X_1X_3被删除以重新获得一个新的实验模型方程：

$$Y = 0.86 + 0.015X_1 + 0.016X_2 - 0.018X_3 + (7.907E\text{-}003)X_1X_2 + 0.013X_2X_3 - 0.033X_1^2 - 0.059X_2^2 - 0.044X_3^2$$

失拟向检验（Lack of fit）P值显示不显著，表明模型充分拟合，受其他因素影响小. 经显著性检验，该模型的相关系数$\gamma = 0.9953$，说明该模型与实际试验拟合较好，自变量与响应值线性关系显著.

图1可以清楚显示，实际实验值和预测值分布相对接近

表1 单因素实验结果

Table 1 Results of single factor test

反应条件 Reaction condition		提取率(ρ/mg mL^{-1}) Extraction yield
溶剂类型 Solvent type	甲醇 Methanol	0.591
	丙酮 Acetone	0.648
	乙醇 Ehanol	0.685
提取时间(t/h) Extraction time	3	0.595
	4	0.657
	5	0.646
	6	0.639
	7	0.604
乙醇浓度(φ//%) Ethanol concentration	30	0.408
	40	0.464
	50	0.477
	60	0.625
	70	0.702
	80	0.681
	90	0.595
料液比(ρ/g mL^{-1}) Solid-liquid ratio	1:20	0.415
	1:30	0.555
	1:40	0.666
	1:50	0.747
	1:60	0.723
pH值 pH value	1	0.438
	2	0.733
	3	0.751
	4	0.668
	5	0.649
	6	0.623

表2 Box–Behnken实验自变量因素表

Table 2 Independent variables and their levels for Box–Behnken design

自变量因素 Variable	编码水平 Levels		
	−1	0	1
pH值 pH value (X_1)	2	3	4
乙醇浓度 Ethanol concentration (X_2, V/V, φ/%)	60	70	80
料液比 Solid-liquid ratio (X_3, ρ/mg mL^{-1})	1:40	1:50	1:60

表3 响应面分析设计及实验结果

Table 3 Box–Behnken design for independent variables and their extraction yield

试验号 No.	X_1(乙醇浓度 Ethanol concentration)	X_2(料液比 Solid-liquid ratio)	X_3 (pH)	Y(提取率 Extraction yield)
1	80	50	4	0.783
2	70	40	2	0.767
3	80	40	3	0.759
4	70	60	4	0.767
5	80	50	2	0.809
6	60	40	3	0.745
7	60	50	4	0.745
8	70	50	3	0.856
9	60	50	2	0.789
10	70	50	3	0.853
11	80	60	3	0.803
12	70	40	4	0.706
13	70	50	3	0.864
14	70	50	3	0.865
15	60	60	3	0.757
16	70	60	2	0.778
17	70	50	3	0.852

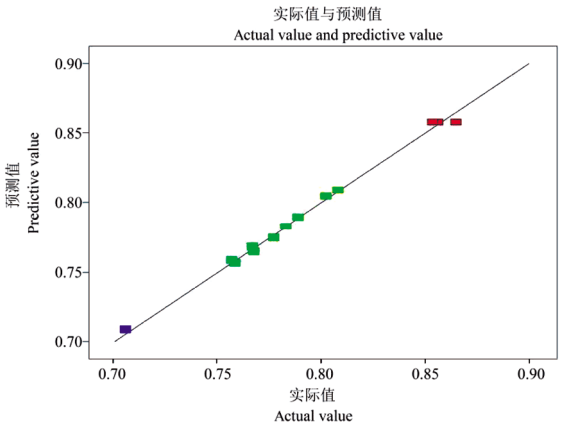

图1 实际值与预测值.

Fig. 1 Predicted response versus actual value.

表4 响应面实验回归方程的方差分析

Table 4 ANOVA for response surface quadratic model

方差来源 Source	平方和 Sum of squares	自由度 Degree of freedom	均方 Mean square	F值 F-value	显著性 P-value (Prob > F)
Model	0.038	9	4.192E-003	164.33	< 0.0001
X_1	1.706E-003	1	1.706E-003	66.90	< 0.0001
X_2	2.060E-003	1	2.060E-003	80.76	< 0.0001
X_3	2.459E-003	1	2.459E-003	96.42	< 0.0001
X_1X_2	2.501E-004	1	2.501E-004	9.80	0.0166
X_1X_3	9.057E-005	1	9.057E-005	3.55	0.1015
X_2X_3	6.342E-004	1	6.342E-004	24.86	0.0016
X_1^2	4.539E-003	1	4.539E-003	177.95	< 0.0001
X_2^2	0.015	1	0.015	582.59	< 0.0001
X_3^2	8.137E-003	1	8.137E-003	319.01	< 0.0001
Residual	1.786E-004	7	2.551E-005		
Lack of fit	3.535E-005	3	1.178E-005	0.33	0.8059
Pure Error	1.432E-004	4	3.580E-005		不显著 Not significant
Cor total	0.038	16			
R^2	0.9953				
Adj. R^2	0.9892				
Pred. R^2	0.9792				

于一条直线，证明有完美的相关性.

根据回归分析结果，作出相应三维响应面图和二维等高线图，如图2所示. 响应面可直观反映3个因素之间及两者之间的交互作用对响应值的影响. 等高线的形状可反映出交互效应的强弱，不同形状的轮廓图表明变量之间的交互作用是否显著. 根据图2所示，所有的3个响应面表明均较为突出，意味着交互作用显著.

由图2a所示，等高线为椭圆形，意味着乙醇浓度（X_1）和料液比（X_2）对提取率有显著影响. 提取率随两个参数的增加而增加，当乙醇浓度（X_1）和料液比（X_3）为72.26%和1:51.32（mg/mL）时，提取率达到最大. 超过这个参数，产量则略有下降. 乙醇浓度和pH值对提取率的影响由图2b所示，随着乙醇浓度（X_1）和pH值（X_3）的增加，提取率起初增加,然后迅速下降，当乙醇浓度（X_1）和pH值（X_3）分别为72.26%和2.83，得到最大提取率. 而椭圆并不明显，这说明两个变量之间的交互作用不显著. 由图2c所示，提取率随着料液比（X_2）和

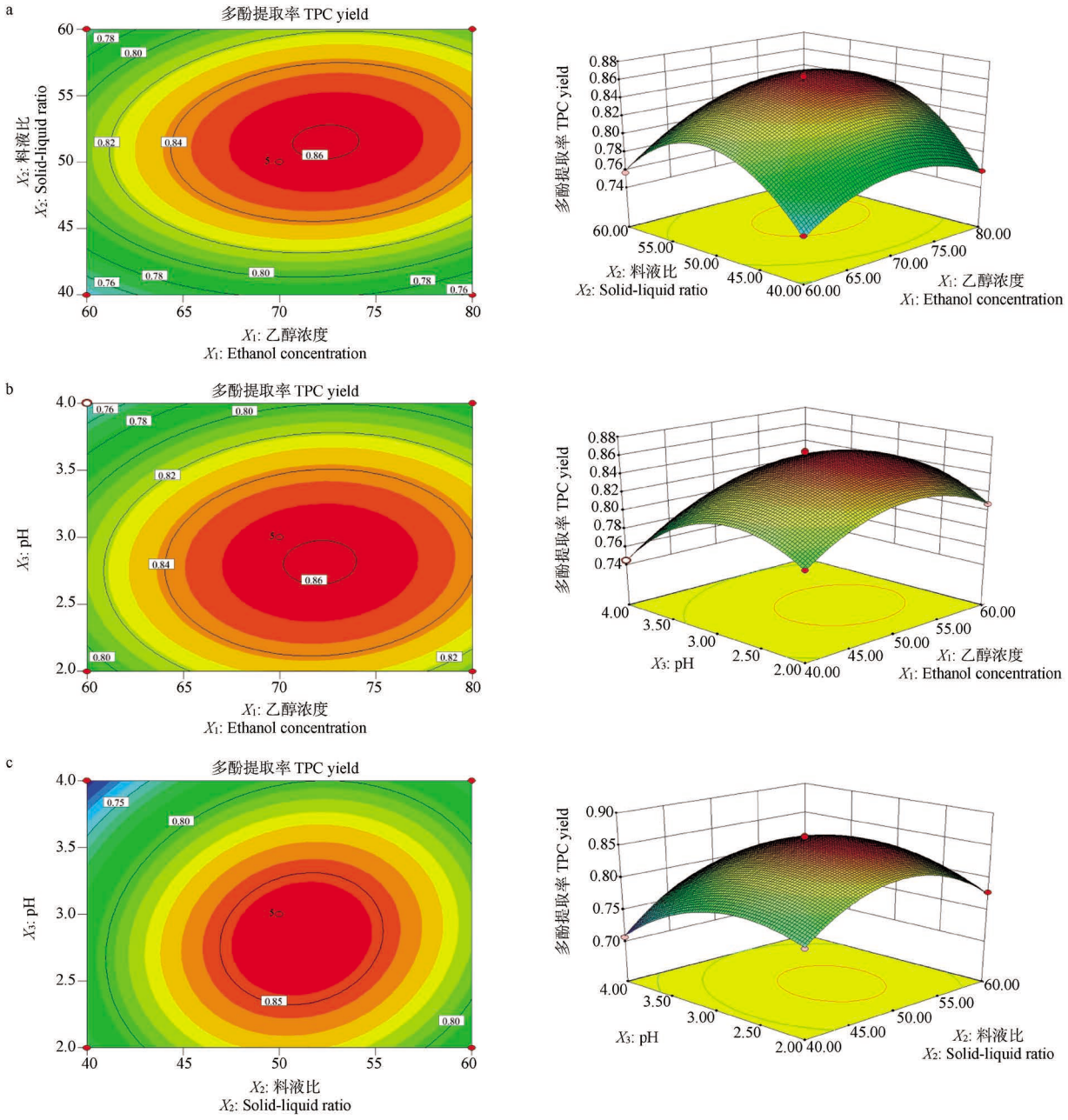

图2 料液比和乙醇浓度（a）、乙醇浓度和pH值（b）、pH值和料液比（c）对多酚提取率影响的等高线和响应面.

Fig. 2 Contour graph and response surface for the effect on yield of total polyphenol content of solid-liquid ratio and ethanol (a), ethanol concentration and pH (b), pH and solid-liquid ratio (c).

pH（X_3）值得增加而加缓慢增加，直到料液比为51.32 （mg/mL）、pH值为2.83后，之后提取率缓慢下降，椭圆较为明显，说明个变量之间的交互作用较为显著，而等高线并不明显，这说明两个变量之间的交互效应较弱.

2.3 模型提取参数的优化和验证

通过上述研究，最优提取条件独立变量和预测的最优响应值呈现如下：乙醇浓度72.26%、料液比1:51.32（g/mL）、pH值2.83. 根据上述条件，最优工艺下金钗石斛多酚提取率为 0.862 mg/g. 为方便规模化生产，将最优工艺修正为乙醇浓度72%、料液比1:51、pH值3，经验证实验，多酚得率为0.865 mg/g，与理论预测值相比，无显著性差异（$P > 0.05$），证明实验可靠有效.

2.4 样品对自由基的清除能力

2.4.1 样品对ABTS自由基的清除能力 样品和Vc对ABTS自由基的清除能力如图3a所示. 结果表明，样品对ABTS自由基的清除能力呈现一定的浓度依赖性，当浓度达到1.28 mg/mL的时候，总多酚对ABTS自由基的清除能力接近于Vc（$P > 0.05$），在高浓度时（2-5 mg/mL），其清除能力达100%，表明多酚对ABTS自由基有良好的清除能力.

2.4.2 样品对DPPH自由基的清除能力 样品和Vc对DPPH自由基的清除能力如图3b所示，结果表明，样品对DPPH自由基的清除能力呈现一定的浓度依赖性，阳性对照Vc表现出非常强的DPPH清除能力，而总酚在低浓度时清除能力较弱，当浓度达5 mg/mL时，总酚表现出较强的清除活性，可达77.54%，但仍低于Vc.

2.4.3 样品对羟自由基的清除能力 样品和Vc对羟自由基的清除能力如图3c所示，结果表明，Vc对羟自由基有很强的清除活性，且随着浓度的增加，其活性越高. 而多酚对羟自由基的清除能力也呈现一定的浓度依赖性，但清除羟自由基的能力小于阳性对照Vc，在高浓度（5 mg/mL）时，其活性达到49.1%，表明多酚具有一定的清除能力.

3 讨论与结论

目前关于多酚提取的研究表明，最常用的技术手段是微波辅助[22]、高压[23]、脉冲电场和超声波[24]. 但在实际生产中这些方法往往需要更高的能源消耗、更高的温度和复杂的操作. 因此，近年来随着溶剂提取法的逐渐改善其提取效率已不断上升[25]，在生产上的应用价值逐渐凸显. 本文采用Box-Benkhen设计优化金钗石斛总多酚的溶剂提取法工艺，实验结果表明，乙醇浓度、料液比、pH值等因素对金钗石斛茎总多酚的提取率均具有较大的影响且交互作用明显. 通过采用Design-Expert8 软件对实验进行三因素三变量的Box-Behnken实验设计完成了该工艺稳健性参数的预测和验证实验，确定最优工艺参数为：乙醇浓度72%、比水原料1:51、pH值3. 经验证实验，多酚得率为86.5 mg/g，与理论预测值相比，无显著性差异（> 0.05），证明实验可靠有效. 浸提最优工艺参数的获得对规范金钗石斛茎多酚的提取工艺，指导高效生产有较大意义.

为考查金钗石斛多酚的生物活性，为其研究及开发利用提供参考，本研究还对金钗石斛总多酚进行了初步体外抗氧化性探讨，实验表明在一定浓度范围内，金钗石斛提取液质量浓度与抗氧化活性呈现出较好的线性关系，但对ABTS自由基、DPPH自由基、羟自由基有不同的清除能力，这可能是因为测定3种自由基清除的结构及能力方法的反应机制不同引起的. 金钗石斛总多酚对ABTS自由基有非常强的清除能力，其原因可能是因为金钗石斛粗提物总多酚具有提供氢原子的能力，因苯环的高电子密度稳定酚氧离子共振形式以稳定结构，而达到还原化物质的能力. 在金钗石斛提取液高浓度时对DPPH自由基也具有较强的清除活性. 而金钗石斛总多酚对羟自由基也具有一定的清除活性，但相较Vc对照品来说较弱. 这可能是因为金钗石斛乙醇粗提物中存在的甾醇、甾体皂甙、三萜类化合物等多种物质在本体系中对羟自由基产生负效应，影响其清除效果. 在以后的工作中，将通过纯化实验纯化金钗石斛总多酚，并测量其体外抗氧化活性及体内抗氧化活性，以更好地评定其抗氧化效果.

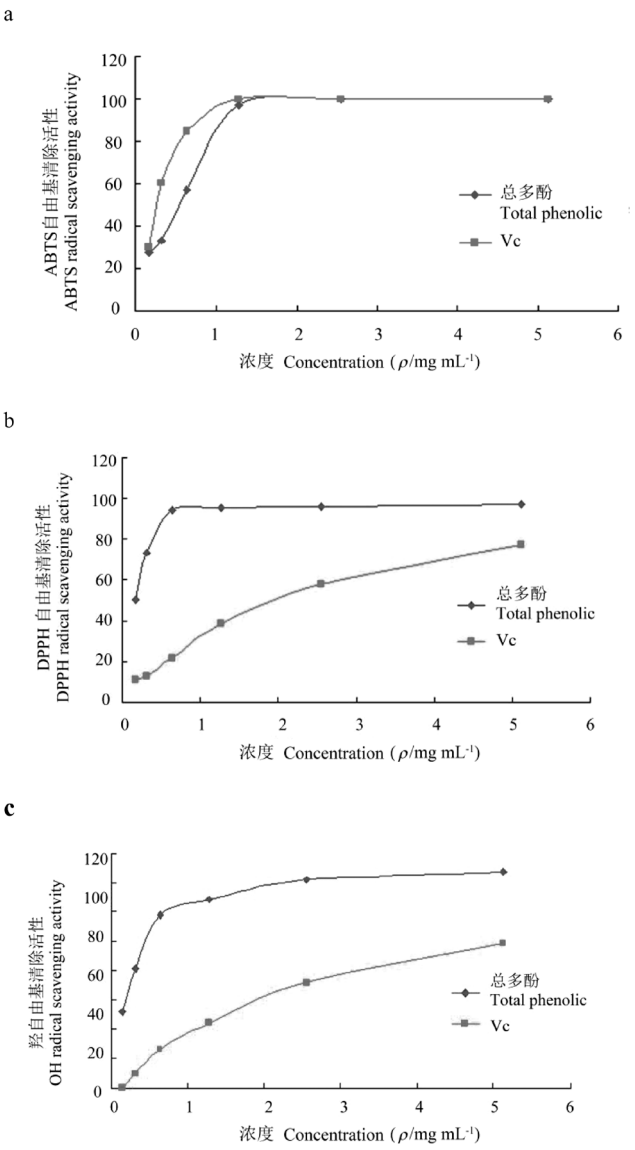

图3 总多酚对ABTS自由基（a）、DPPH自由基（b）和羟自由基（c）的清除能力.

Fig. 3 Scavenging effect of total phenolic content on ABTS radical (a), DPPH radical (b) and OH radical (c).

参考文献 [References]

1 中华人民共和国药典[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 62-63 [Chinese Pharmacopoeia [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2005: 62-63

2 罗傲霜, 淳泽, 葛绍荣, 罗傲雪, 范益军, 刘鹏, 彭文景. 迭鞘石斛多糖降血糖作用研究[J]. 应用与环境生物学报, 2006, **12** (3): 334-337 [Luo AS , Chun Z, Ge SR, Luo AX, Fan YJ, Liu P, Peng WJ. Effect of *Dendrobium denneanum* polysaccharide reducing blood glucose *in vivo* [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2006, **12** (3): 334-337]

3 Lee YH, Park JD, Baek NI, Kim SI, Ahn BZ. *In vitro* and *in vivo* anti-tumoral phenanthrenes from the aerialparts of *Dendrobium nobile* [J]. *Planta Med,* 1995, **61** (2): 178-180

4 罗傲雪, 宋关斌, 淳泽. 迭鞘石斛抗肿瘤作用研究[J]. 应用与环境生物学报, 2007, **13** (2): 184-187 [Luo AX, Song GB, Chun Z. Inhibiting effect of tumor by *Dendrobium denneanum* [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2007, **13** (2): 184-187]

5 Cheng XF, Chen W, Zhou H. Functional characterization of a novel tropinone reductase-like gene in *Dendrobium nobile* Lindl [J]. *J Plant Physiol*, 2013, **10**: 958-964

6 柳俊, 张建军. Box-Benkhen效应面法优化白芍配方颗粒提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, **17** (1): 9-13 [Liu J, Zhang JJ. Optimization of processing parameters for extraction of total glucoside of paeony in paeony dispensing granule using Box-behnken Experimental Design [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2011, **17** (1): 9-13]

7 Srimanta R, Jerald A. Lalmanb. Response Surface Methodology: process and product optimization using designed experiment [J]. *Chem Eng J*, 2011, **69**: 116-125

8 Duh PD , Yen GC. Changes in antioxidant activity and components of methanolic extracts of peanut hulls irradiated with ultraviolet light [J]. *Food Chem*, 1995, **54**: 127-131

9 宋立江, 狄莹, 石碧. 植物多酚研究与利用的意义及发展趋辨[J]. 化学进展, 2000, **12** (2): 161-169 [Song LJ, Di Y, Shi B. The significance and development trend in researchof plant polyphenols [J]. *Prog Chem*, 2000, **12** (2): 161-169]

10 陈海光, 刘朝霞, 于立梅. 山竹果皮中多酚类物质的抗氧化性研究[J]. 食品工业科技, 2011, **32** (8): 1-7 [Chen HG, Liu CX, Yu LM. Study on antioxidational effects of polyphenols in mangosteen pericarp [J]. *Sci Tech Food Ind,* 2011, **32** (8): 1-7]

11 Singleton VL, Rossi JL. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic–phosphotungstic acid reagents [J]. *Am J Enol Viticult*, 1965, **16**: 144-158

12 Terpinc P, Ceh B, Ulrih NP, Abramovic H. Studies of the correlation between antioxidant properties and the total phenolic content of different oil cake extracts [J]. *Ind Crop Prod*, 2012, **39**: 210-217

13 Gutfinger T. Polyphenols in olive oils [J]. *J Am Oil Chem Soc*, 1981, **58**: 966-968

14 Liu H. Du X. Yuan Q. Optimisation of enzyme assisted extraction of silybin from the seeds of Silybum marianum by Box–Behnken experimental design [J]. *Phytochem Anal*, 2009, **20**: 475-483

15 Silva EM, Rogez H, Larondelle Y. Optimization of extraction of phenolics from Inga edulis leaves using response surface methodology [J]. *Sep Purif Technol*, 2007, **55**: 381-387

16 李金凤, 段玉清, 马海乐. 板栗壳中多酚的提取及体外抗氧化性研究[J]. 林产化学与工业, 2010, **2**: 53-58 [Li JF, Duan YQ, Ma HL. Study on extraction and antioxidation property of polyphenol from chestnut shells [J]. *Chem Ind For Prod*, 2010, **2**: 53-58]

17 Zhao CF, Li S, Li SJ. Extraction optimization approach to improve accessibility of functional fraction based on combination of total polyphenol, chromatographic profiling and antioxidant activity evaluation*: Pyracantha fortuneana* fruit as an example [J]. *J Funct Foods*, 2013, **5**: 715-728

18 Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay [J]. *Free Radical Bio Med*, 1999, **26**(9-10): 1231-1237

19 Luo AX, Fan YJ. Antioxidant activities of berberine hydrochloride [J]. *J Med Plants Res*, 2011, **5**: 3702-3707

20 Shimada K, Fujikawa K. , Yahara K. , Nakamura T. Antioxidative properties of xanthin on autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion [J]. *J Agr Food Chem*, 1992, **40**: 945-948

21 Zou C, Du YM, Li Y, Yang JH, Feng T, Zhang L, Kennedy JF. Preparation of lacquer polysaccharide sulfates and their antioxidant activity *in vitro* [J]. *Carbohydr Polym*, 2008, **73**: 322-331

22 Li YP, Skouroumounis GK, Elsey GM, Taylor DK. Microwave-assistance provides very rapid and efficient extraction of grape seed polyphenols [J]. *Food Chem*, 2011, **2**: 570-576

23 Corrales M, Toepfl S, Butz P, Knorr D, Tauscher B. Extraction of anthocyanins from grape by-products assisted by ultrasonics, high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: a comparison [J]. *Food Sci*, 2008, **9**: 85-91

24 Grimi N, Mamouni F, Lebovka N, Vorobiev E, Vaxelaire J. Impact of apple processing modes on extracted juice quality: pressing assisted by pulsed electric fields [J]. *Food Eng*, 2011, **103**: 52-61

25 Guo XF, Han DM. , Xi HP, Rao L, Liao XJ, Hu XS, Wu JH. Extraction of pectin from navel orange peel assisted by ultra-high pressure, microwave or traditional heating: a comparison [J]. *Carbohyd Polym,* 2012, **8** (2): 441-448