

文章编号:1001-6880(2018)Suppl-0001-09

卷丹叶片总黄酮提取工艺优化及体外抗氧化活性分析

王玉洁,梁 鑫,李 猛,吴文静,罗洁棂,丁春邦*

四川农业大学生命科学学院,雅安 625014

摘要:优化卷丹叶片中总黄酮的提取工艺条件并评价其体外抗氧化活性。以总黄酮得率为指标,分别考察乙醇浓度、提取时间、提取温度和液料比4个因素对总黄酮得率的影响,采用响应面法BBD设计分析各因素的影响程度和各因素间的相互作用。优选出的最佳工艺条件为:乙醇浓度66%,提取时间99 min,提取温度80 °C,液料比40:1 mL/g,得率为 2.28 ± 0.06 mg/g,与模型预测值(2.29 mg/g)没有显著性差异,说明优化得到的最佳工艺稳定可靠。在实验浓度范围内,卷丹叶片总黄酮对DPPH自由基、超氧阴离子、羟基自由基的最大清除率分别达到89.55%、45.69%、84.20%,Fe²⁺螯合率达到84.32%,表明卷丹叶片总黄酮具有较强的体外抗氧化能力。

关键词:卷丹;总黄酮;响应面优化;抗氧化活性

中图分类号:R284.2

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.S.001

Extraction and Antioxidant Activity of Flavonoids from Leaves of *Lilium lancifolium* Thunb

WANG Yu-jie, LIANG Xin, LI Meng, WU Wen-jing, LUO Jie-ling, DIND Chun-bang*

College of Life Sciences, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China

Abstract: The objection was to find out the optimal extraction conditions of flavonoids from *Lilium lancifolium* Thunb (LLF) and evaluate its antioxidant activity. Based on the single factor experiments, Box-Behnken Design of response surface methodology was applied to optimize the extraction process with the flavonoids yield as evaluation index. The optimal extraction conditions were as follows: ethanol concentration 66%, extraction time 99 min, extraction temperature 80 °C, ratio of liquid to material 44 mL/g, respectively. Under aforementioned conditions, the experimental flavonoids yield was 2.28 ± 0.06 mg/g, close to the predicted value (2.29 mg/g). Furthermore, LLF showed significant antioxidant activity against DPPH, superoxide and hydroxyl radical and iron-chelating ability. The scavenging/chelating rate were respectively up to 89.55%、45.69%、84.20% and 84.32%. In general, the process is a very effective method to extract LLF and the LLF possesses strong antioxidant capacity *in vitro*.

Key words: *Lilium lancifolium* Thunb; flavonoids; response surface methodology; antioxidant activity

卷丹(*Lilium lancifolium* Thunb)是百合科(Liliaceae)百合属(*Lilium*)多年生草本植物,其耐旱性强,适于在多种土壤条件下生长,在秦巴山区有着丰富的野生资源,各地均有引种栽培。卷丹富含多酚、多糖、黄酮、甾体皂苷和生物碱^[1-5]等多种生物活性物质,具有养阴润肺、镇静安神、消炎止咳和增强机体免疫力等功效,是《中国药典》^[6]收录的三种药用百合之一,其入药部分为肉质鳞叶。

黄酮类物质具有多种生理活性,有抗氧化、抑菌、抗病毒、抗癌、抗衰老及预防心血管疾病等作用^[5,7]。目前黄酮类物质提取方法有醇类提取、冷

浸提取、回流提取、超声波提取、微波提取、酶法提取等^[8]。乙醇安全无毒且便于回收再利用,黄酮类物质的提取常用乙醇浸提法^[9-11]。目前关于卷丹总黄酮的研究较少,且多集中于鳞茎,关于卷丹叶片总黄酮的提取鲜有报道^[12,13]。有研究表明,卷丹叶片中含大量黄酮类物质,含量甚至比鳞茎中要高^[14]。在栽培生产中,为了促进鳞茎的生长发育,减少地上茎叶生长对养料的消耗,会对卷丹进行打顶处理。修剪下来的大量卷丹茎叶被遗弃,造成资源浪费。

响应面分析法将复杂的未知函数用简单的模型来拟合,计算简便,能有效减少试验组数,是一种优化多变量系统的有效试验工具。本文利用响应面法对卷丹叶片中黄酮类物质的乙醇浸提法进行优化,通过DPPH自由基、超氧阴离子、羟基自由基的清除

率以及 Fe^{2+} 融合率四个指标来评价其体外抗氧化活性,为卷丹叶片的有效利用和开发提供理论依据和技术支撑。

1 材料与仪器

1.1 供试材料

卷丹采自四川省达州市,经四川农业大学丁春邦教授鉴定。取叶片洗净干燥后粉碎,过筛常温保存。

1.2 试验仪器

LDP-750A 型粉碎机(浙江永康市红太阳机电有限公司),BT-124S 型电子天平(德国 Sartorius 公司),紫外分光光度计 UV-1750(日本岛津制作所),DZ-2BC 型真空干燥箱(天津泰斯特仪器有限公司),RM-220 试验室超纯水机(四川沃特尔科技发展有限公司),7D-4Z 型台式低速离心机(蜀科仪器有限公司)。

2 试验方法

2.1 响应面法优化提取工艺

2.1.1 标准曲线的绘制

采用亚硝酸钠-硝酸铝比色法,略作修改^[15]。称取芦丁标准品 30.0 mg,用乙醇溶解,定容至 100 mL,配置成浓度为 0.3 mg/mL 芦丁标准品溶液。分别吸取 0、0.1、0.2、0.4、0.6、0.8 mL 标准液到 5 mL EP 管中,用乙醇定容至 1.0 mL。加入 5% (w/v) 亚硝酸钠溶液 0.1 mL,混匀,放置 6 min;加入 10% (w/v) 硝酸铝溶液 0.1 mL,混匀,放置 6 min;加入 4% (w/v) 氢氧化钠溶液 1.0 mL,混匀,反应 15 min。于 510 nm 下测定吸光值,以芦丁浓度为横坐标 x,

吸光值为纵坐标 y,绘制芦丁标准曲线,得到标准方程 $y = 6.1033x - 0.026$, $R^2 = 0.999$,在 0.03 ~ 0.24 mg/mL 浓度范围内线性关系良好。

2.1.2 卷丹总黄酮的提取

准确称取 1.0 g 干燥卷丹叶粉末,不同条件下浸提,8 000 rpm 离心 10 min,取上清液进行比色反应,于 510 nm 下测吸光值,根据 2.1.1 中标准方程计算总黄酮浓度。得率的计算公式如下:

$$\text{总黄酮得率} = \frac{C \times V \times N}{m \times 1000} \times 100\%$$

式中 C 为样品总黄酮浓度(mg/mL);V 为样品体积(mL);N 为样品的稀释倍数;m 为卷丹粉末质量(g)。

2.1.3 单因素试验

以总黄酮得率为指标,分别考察乙醇浓度(50、60、70、80、90%),固定液料比 40:1,提取时间 80 min,提取温度 80 °C)、提取时间(40、80、120、160、200 min,固定液料比 40:1,乙醇浓度 70%,提取温度 80 °C)、提取温度(50、60、70、80、90 °C,固定液料比 40:1,提取时间 80 min,乙醇浓度 70%)、液料比(10:1、20:1、30:1、40:1、50:1,固定提取时间 80 min,乙醇浓度 70%,提取温度 80 °C)4 个因素对卷丹总黄酮提取得率的影响。

2.1.4 响应面试验设计

在单因素试验的基础上,利用响应面软件 Design Expert 8.0.6 中的 Box-Behnken 设计(BBD),以乙醇浓度(X_1)、提取时间(X_2)、提取温度(X_3)和液料比(X_4)为自变量,以卷丹总黄酮的得率为响应值(Y),设计四因素三水平响应面试验,试验设计如表 1。

表 1 响应面试验因素与水平表

Table 1 Factors and levels of response surface experiments

水平 Levels	因素 factors			
	乙醇浓度 (X_1) (%)	提取时间 (X_2) (min)	提取温度 (X_3) (°C)	液料比 (X_4) (mL/g)
-1	60	40	70	30:1
0	70	80	80	40:1
1	80	120	90	50:1

2.1.5 验证试验

准确称取 1.0 g 干燥卷丹粉末,在优选的工艺条件下进行 3 次平行验证试验,对比实测值与预测值,考察优选工艺的可靠性和稳定性。

2.2 体外抗氧化活性试验

2.2.1 DPPH 自由基清除能力测定

参照 Liu 等^[16]的方法,用 95% 的乙醇配制 DPPH 溶液,终浓度为 0.2 mM,置于 4 °C 冰箱备用。将

1 mL DPPH 溶液和 1 mL 不同浓度(0.5~5.0 mg/mL)的黄酮溶液加入 EP 管中, 混合均匀后室温反应 20 min, 于 517 nm 波长处测吸光值。Vc 为阳性对照, 试验重复 3 次。DPPH 自由基清除率利用下列公式计算:

$$\text{DPPH 自由基清除率} (\%) = [1 - (A_1 - A_2)/A_0] \times 100\%$$

其中 A_0 为乙醇替代样品溶液的吸光值; A_1 为样品或 Vc 与 DPPH 反应后的吸光值; A_2 为样品溶液和乙醇的吸光值。

2.2.2 亚铁离子螯合能力测定

参照 Zhang 等^[17] 报道的方法, 在 EP 管中依次加入 1 mL 黄酮溶液(0.5~5.0 mg/mL)、2 mL 0.065 mM FeSO₄ 溶液、1 mL 1 mM 菲啰嗪溶液充分混合, 于室温下反应 10 min, 在 562 nm 波长处测定吸光值, 蒸馏水为空白对照, EDTA-2Na 为阳性对照。试验重复 3 次。亚铁离子螯合能力通过以下公式计算:

$$\text{亚铁离子螯合率} (\%) = [1 - (A_1 - A_2)/A_0] \times 100\%$$

其中 A_0 为乙醇替代样品溶液的吸光值; A_1 为样品或 EDTA-2Na 溶液与亚铁离子螯合后的吸光值; A_2 为样品和蒸馏水的吸光值。

2.2.3 羟基自由基清除能力测定

参照王布雷等^[18] 的方法, 在 EP 管中依次加入 9 mM FeSO₄、9 mM 水杨酸-乙醇溶液、不同浓度(0.5~5.0 mg/mL)的黄酮溶液 2 mL, 再加入 2 mL 8.8 mM H₂O₂ 启动反应, 37 °C 水浴 30 min, 冷却至室温后在 510 nm 波长处测定吸光值, Vc 为阳性对照, 蒸馏水为空白对照。试验重复 3 次。羟基自由基的清除率以下列公式计算:

$$\text{羟基自由基清除率} (\%) = [1 - (A_1 - A_2)/A_0] \times 100\%$$

A_0 为蒸馏水代替样品溶液的吸光值; A_1 为样品或 Vc 清除自由基后的吸光值; A_2 为用蒸馏水替代 H₂O₂ 的吸光值。

2.2.4 超氧阴离子清除能力测定

参照 Robak^[19] 等的方法, 依次在 EP 管中加入 50 μL 样品溶液(0.5~5.0 mg/mL)、50 μL PMS (60 μM)、50 μL NBT (156 μM) 和 100 μL NADH (156 μM)。室温下孵育 8 min, 然后在 560 nm 处测量吸光值。Vc 为阳性对照, 试验重复 3 次。超氧阴离子

的清除率以下列公式计算:

$$\text{超氧阴离子清除率} (\%) = [1 - (A_1 - A_2)/A_0] \times 100\%$$

A_0 为乙醇代替样品溶液的吸光值; A_1 为样品或 Vc 清除自由基后的吸光值; A_2 为用蒸馏水替代超氧阴离子产生系统的吸光值。

3 结果与分析

3.1 单因素试验结果分析

卷丹总黄酮得率随着乙醇浓度的增加先增加后迅速减小, 在乙醇浓度为 70% 时得率达到最大值(图 1A)。这可能与黄酮类物质的极性有关。天然黄酮类化合物多以苷类形式存在, 黄酮苷的极性与 70% 乙醇相似^[20,21]。故乙醇浓度选取 70% 作为响应面设计的中心点。

在 80 min 内, 得率随着提取时间的增加迅速增大, 当提取时间继续增加时, 得率反而降低(图 1B)。适当地延长时间, 有利于黄酮类化合物和溶剂充分接触而溶出增加。而继续增加提取时间, 可能会导致黄酮类物质结构的破坏而使得率降低^[22]。故选择 80 min 为响应面设计的中心点。

在 50~80 °C 范围内, 随着温度的增加, 得率缓慢增大。继续升高温度, 得率有所降低(图 1C)。可能是因为适当的升温增加了黄酮类化合物的溶解度, 而温度过高则使其结构遭到破坏^[23]。故选择 80 °C 作为响应面设计的中心点。

液料比从 10:1 增加到 50:1 的过程中, 得率增幅逐渐降低, 趋于平缓(图 1D)。考虑到节能环保, 选取 40:1 作为响应面设计的中心点。

3.2 响应面试验结果分析

3.2.1 响应面试验设计及结果

响应面设计及结果见表 2。利用 Design Expert 8.0.6 对其进行多元回归拟合分析, 得到如下拟合编码方程:

$$Y = 2.26 - 0.055 X_1 + 0.073 X_2 - 9.136 \times 10^{-3} X_3 - 0.028 X_4 - 0.17 X_1 X_2 + 0.052 X_1 X_3 - 0.052 X_1 X_4 + 0.085 X_2 X_3 + 0.011 X_2 X_4 + 0.093 X_3 X_4 - 0.18 X_1^2 - 0.15 X_2^2 - 0.24 X_3^2 - 0.28 X_4^2$$

3.2.2 回归模型方差分析与显著性检验

回归模型的统计参数见表 3。其中, 模型 $P < 0.0001$, 极显著; 失拟项 $P = 0.1702 (> 0.05)$, 不显著。说明模型的拟合度高, 实验误差小。模型的相

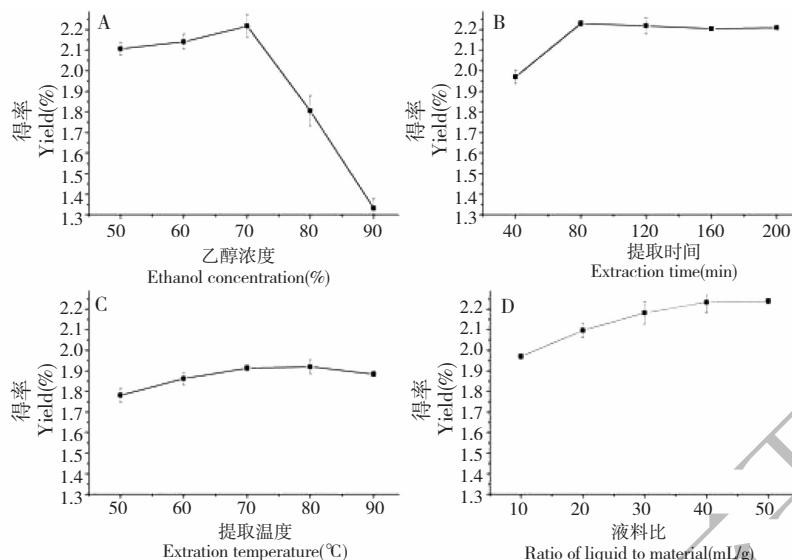


图1 乙醇浓度、提取时间、提取温度、液料比对总黄酮得率的影响

Fig. 1 Effect of ethanol concentration (A), extraction time (B), extraction temperature (C) and ratio of liquid to material (D) on the yield of flavonoids

表2 BBD 试验设计及结果

Table 2 BBD design and results of response surface experiments

No.	乙醇浓度 Ethanol concentration (X1) (%)	提取时间 Extraction time (X2) (min)	提取温度 Extraction temperature (X3) (°C)	液料比 Liquid/Substrate (X4) (mL/g)	得率 Yield (Y) (%)
1	60	40	80	40	1.71
2	70	80	90	30	1.60
3	70	120	80	30	1.89
4	70	40	90	40	1.78
5	60	80	80	30	1.88
6	70	80	70	50	1.70
7	60	80	80	50	1.86
8	60	80	90	40	1.82
9	70	40	80	30	1.78
10	80	80	70	40	1.75
11	70	40	70	40	1.88
12	70	120	80	50	1.90
13	70	80	80	40	2.29
14	80	40	80	40	1.93
15	70	80	80	40	2.25
16	70	120	90	40	2.04
17	70	40	80	50	1.75
18	60	80	70	40	1.92
19	80	80	90	40	1.85
20	70	80	90	50	1.75
21	70	80	70	30	1.92

续表2 (Continued Tab. 2)

No.	乙醇浓度 (X1) (%)	提取时间 (X2) (min)	提取温度 (X3) (℃)	液料比 (X4) (mL/g)	得率 (Y) (%)
22	70	80	80	40	2.28
23	60	120	80	40	2.27
24	80	80	80	50	1.61
25	80	80	80	30	1.84
26	70	80	80	40	2.19
27	70	80	80	40	2.27
28	80	120	80	40	1.81
29	70	120	70	40	1.79

关系数 $R^2 = 0.9582 (> 0.75)$, 说明模型准确性较高。Adj. $R^2 = 0.9163$, 表明有 91.63% 的响应值的变化是由试验中乙醇浓度、提取时间、提取温度和液料比的改变引起的, 说明模型拟合度较高。因此, 该模型可以用于优化卷丹总黄酮的提取工艺。

由表 3 中的方差分析可知, 对于卷丹总黄酮得率, 乙醇浓度、提取时间的一次项、二次项和交互项

均有极显著影响 ($P < 0.01$); 提取温度、液料比的二次项、交互项均有极显著影响 ($P < 0.01$); 提取时间与提取温度的交互项有显著影响 ($P < 0.05$)。F 值大小: $X_2 > X_1 > X_4 > X_3$, 即各因素对总黄酮得率影响程度的顺序依次为: 提取时间 > 乙醇浓度 > 液料比 > 提取温度。

表 3 回归模型统计参数

Table 3 Statistical parameters of the quadratic response surface model

方差来源 Source	平方和 Sum of Squares	自由度 df	均方 Mean Square	F 值 F-value	P 值 P-value	显著性 Significant
Model	1.14	14	0.082	22.9	<0.0001	* *
X_1	0.036	1	0.036	10.18	0.0065	* *
X_2	0.064	1	0.064	17.9	0.0008	* *
X_3	1.00E-03	1	1.00E-03	0.28	0.6043	
X_4	9.70E-03	1	9.70E-03	2.72	0.1212	
$X_1 X_2$	0.12	1	0.12	32.69	<0.0001	* *
$X_1 X_3$	0.011	1	0.011	3.03	0.1036	
$X_1 X_4$	0.011	1	0.011	3.03	0.1038	
$X_2 X_3$	0.029	1	0.029	8.13	0.0128	*
$X_2 X_4$	4.53E-04	1	4.53E-04	0.13	0.7269	
$X_3 X_4$	0.035	1	0.035	9.73	0.0075	* *
X_1^2	0.22	1	0.22	61.76	<0.0001	* *
X_2^2	0.14	1	0.14	39.06	<0.0001	* *
X_3^2	0.37	1	0.37	103.73	<0.0001	* *
X_4^2	0.51	1	0.51	142.71	<0.0001	* *
残差 Residual	0.05	14	3.56E-03			
失拟项 Lack of fit	0.044	10	4.36E-03	2.76	0.1702	Ns
纯误差 Pure error	6.32E-03	4	1.58E-03			
总离差 Cor total	1.19	28				

续表3(Continued Tab. 3)

方差来源 Source	平方和 Sum of Squares	自由度 df	均方 Mean Square	F-value	P-value	显著性 Significant
R^2	0.9582					
Adj. R^2	0.9163					

注: * 显著 ($P < 0.05$) ; ** 极显著 ($P < 0.01$) ; Ns 不显著 ($P > 0.05$)。

Note: * significant ($P < 0.05$) ; ** highly significant ($P < 0.01$) ; Ns: non-significant ($P > 0.05$) .

3.2.3 响应面分析

响应面的3D图和等高线图可以直观地反映各因素及两两因素间交互作用对响应值的影响。3D图的坡度大小反映响应值对该因素的敏感程度,坡度大则该因素对响应值的影响大,反之较小。等高线图的形状有圆形和椭圆形,椭圆代表两因素间交互作用显著,圆形则表示不显著^[24]。本试验的响应面的3D图和等高线图如图2、图3所示。由图2可知,得率随着交互项的变化先增加后减小,从坡度的

大小判断各因素对得率的影响大小:提取时间 > 乙醇浓度 > 液料比 > 提取温度,即提取时间的影响最大,其次是乙醇浓度、液料比和提取温度,结果与方差分析一致。由图3可知,乙醇浓度和提取时间、提取时间和提取温度、提取温度和液料比的等高线形状呈椭圆,乙醇浓度和提取温度、乙醇浓度和液料比、提取时间和液料比的等高线呈圆形,说明乙醇浓度和提取时间、提取时间和提取温度以及提取温度和液料比的交互作用对总黄酮得率影响显著。

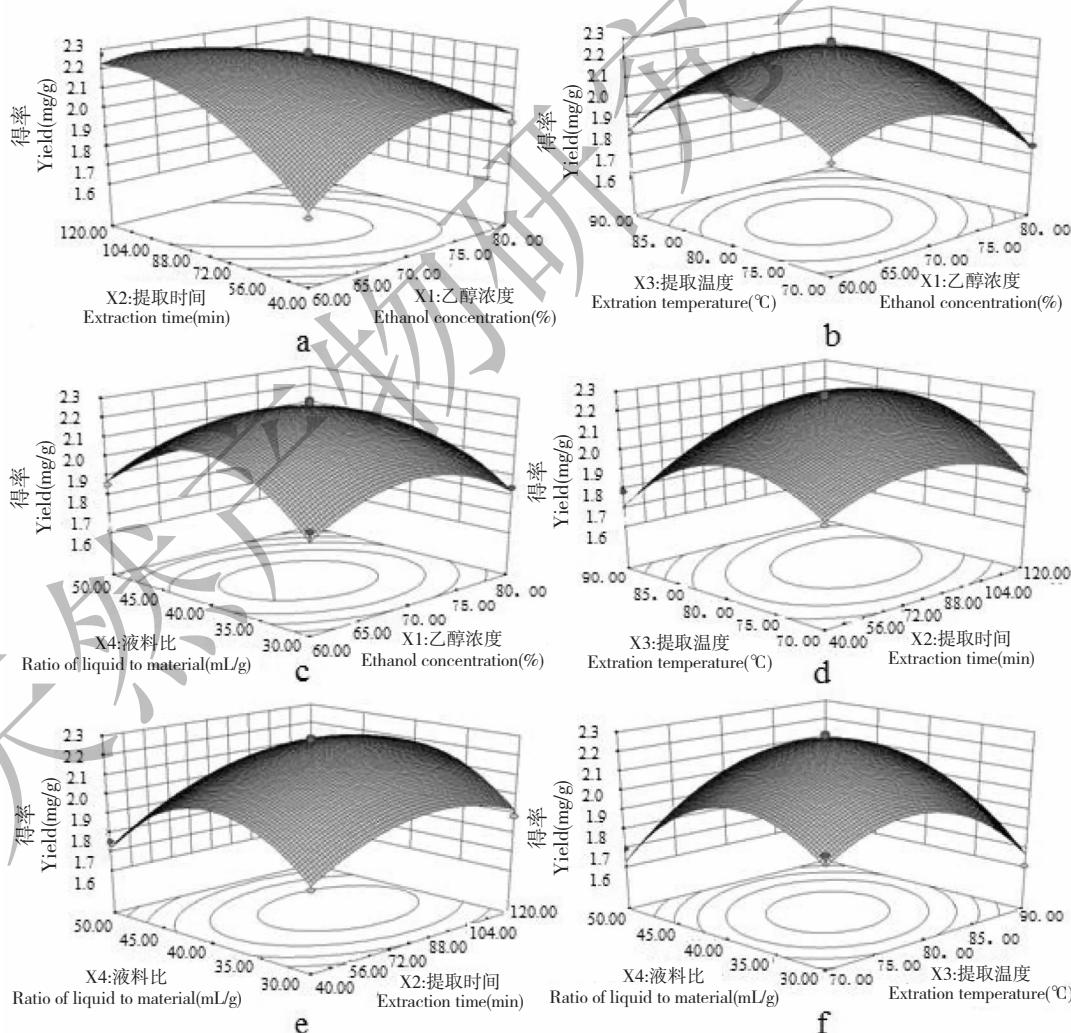


图2 两因素交互作用影响总黄酮得率的3D图

Fig. 2 The response surface plots (3D) showing the mutual effects of different parameters on the yield of flavonoids

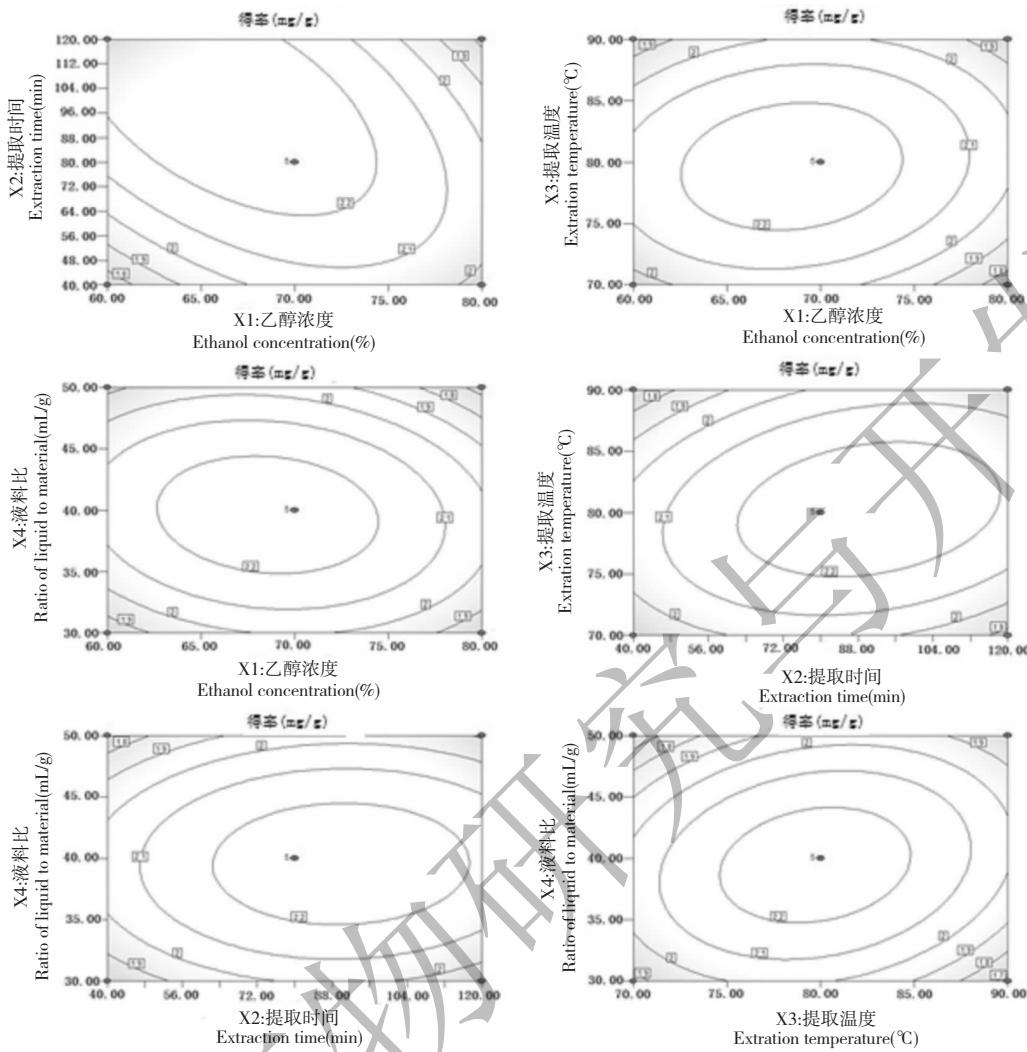


图3 两因素交互作用影响总黄酮得率的等高线图

Fig. 3 The contour plots (2D) showing the mutual effects of different parameters on the yield of flavonoids

3.2.4 提取工艺的优化与验证

通过软件对回归方程分析,得到卷丹总黄酮提取的最佳工艺为:乙醇浓度 66.39%, 提取时间 98.61 min, 提取温度 80.24 °C, 液料比 39.96:1 mL/g, 预测得率为 2.29 mg/g。根据实际条件,调整后的模型预测最佳工艺为:乙醇浓度 66%, 提取时间 99 min, 提取温度 80 °C, 液料比 40:1 mL/g。进行 3 次重复试验,得到的得率为 2.28 ± 0.06 mg/g, 与预测值没有显著性的差异,说明响应面优化得到的最佳工艺稳定可靠。

3.3 体外抗氧化活性分析

DPPH 自由基是一种人工合成的、稳定的有机自由基,其 N 原子上存在孤对电子。DPPH 自由基醇溶液在 517 nm 处有一强吸收峰,其单电子与自由基清除剂配对而使其吸收峰逐渐消失,可用分光光

度计进行分析。此法广泛用于定量测定生物制品的抗氧化能力^[25]。从图 4 可以看出,卷丹总黄酮有很强的 DPPH 自由基清除能力,且在一定质量浓度范围内存在量效关系,最大清除率达到 89.55%, IC₅₀ 为 0.713 mg/mL。随着质量浓度增加,在浓度大于 2 mg/mL 后,卷丹黄酮对 DPPH 的清除率趋于平稳,且只略低于 Vc。

超氧阴离子是生物体最初生成的自由基,可以转化成其他种类氧自由基^[26]。NADH 在有氧条件下通过电子还原作用产生的超氧阴离子与 NBT 结合,生成的蓝色甲腙在 721 nm 处有特征吸收峰。在反应体系内,样品清除能力越大,溶液颜色越浅。如图 4B 所示,卷丹总黄酮具一定的超氧阴离子清除能力,试验范围内存在量效关系,在 5 mg/mL 时能达到 45.69%,且有继续上升趋势。

$\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$ 体系通过 Fenton 反应产生的羟基自由基可与水杨酸结合,生成在 510 nm 处有强烈吸收峰的 2,3-二羟基苯甲酸。加入样品或 Vc 后清除部分羟基自由基能减少吸收峰的形成,用分光光度计测定其吸光值可反映体系中的自由基含量,检测样品抗氧化能力^[27]。如图 4C 所示,卷丹总黄酮对羟基自由基的清除率与其浓度呈正相关,在黄酮质量浓度为 5 mg/mL 时达到 84.20%, IC_{50} 为 3.46 mg/mL。具备较强的羟基自由基清除能力。

在缺乏 Fe^{2+} 时过氧化氢十分稳定,有足够的游

离铁时则会有大量的羟基自由基由过氧化氢而产生。因此,螯合 Fe^{2+} 致使 Fenton 反应不活跃的能力是作为抗氧化剂的一个重要指标^[28]。菲啰嗪能够与亚铁离子形成有色复合物,在 562 nm 处有吸收峰。加入的样品或 EDTA-2Na 能与菲啰嗪竞争 Fe^{2+} ,减少吸收峰的形成。卷丹总黄酮的 Fe^{2+} 融合率如图 4D 所示。在 0.5~2 mg/mL 范围内对 Fe^{2+} 的螯合能力随浓度增加迅速上升,之后趋于平缓,在 3 mg/mL 时融合率达到最大值 84.32%,有较强的 Fe^{2+} 融合能力。

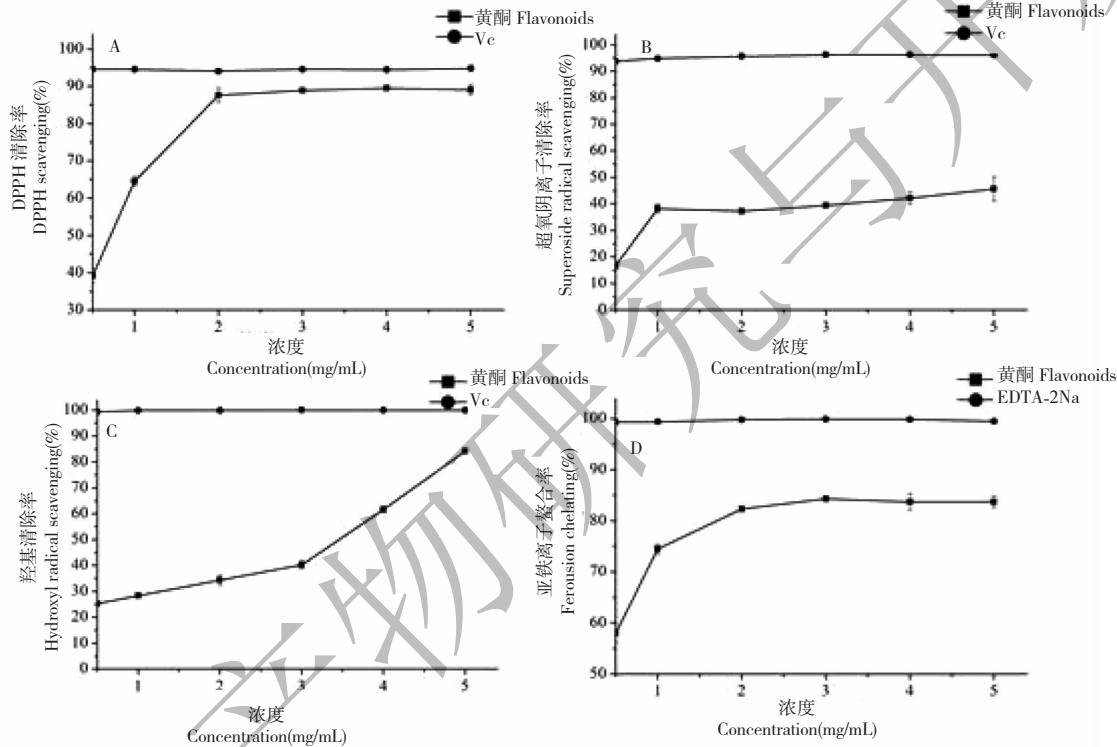


图 4 总黄酮对 DPPH 自由基(A)、超氧阴离子(B)、羟基自由基(C)的清除能力及对亚铁离子(D)的螯合能力

Fig. 4 DPPH (A), superoxide (B), hydroxyl (C) radical scavenging activities and Fe^{2+} (D) chelating activity of total flavonoids

4 结论

黄酮类化合物在植物体内多以黄酮苷的形式存在,本研究利用相似相溶原理,用与黄酮苷极性相似且安全无毒的乙醇作为提取剂,借助响应面设计优化卷丹叶片中总黄酮的提取工艺,确定最佳工艺条件为:乙醇浓度 66%, 提取时间 99 min, 提取温度 80 °C, 液料比 40:1 mL/g。最佳工艺条件下,得率 2.28 ± 0.06 mg/g 与预测值 2.29 mg/g 没有显著性差异, RSD 为 1.67%, 说明优化得到的工艺稳定可靠。与以前的报道^[14]相比较,优化后的工艺总黄酮得率提高了 27.7%, 且较之文献中的超声提取,本文的乙醇浸提法对仪器设备没有特殊要求。

活跃的自由基在生物体内具有较强的破坏力,能破坏脂质、蛋白质和 DNA 结构,导致细胞死亡和组织损伤。卷丹叶片中总黄酮含量高,对 DPPH 自由基、超氧阴离子和羟基自由基的最大清除率分别达到 89.55%、45.69% 和 84.20%, Fe^{2+} 融合率达到 84.32%, 说明卷丹叶片总黄酮具有较强的体外抗氧化活性,有很大的开发利用潜力。卷丹作为主要的药用百合,在全国范围内分布广,种植面积大,将废弃的卷丹叶片利用起来,可有效提高资源利用率。

参考文献

- 1 Jin L, Zhang YL, Yan LM et al. Phenolic compounds and antioxidant activity of bulb extracts of six *Lilium* species native

- to China [J]. *Molecules*, 2012, 17: 9361-9378.
- 2 Gao J, Zhang T, Zheng YJ et al. Structural characterisation, physicochemical properties and antioxidant activity of polysaccharide from *Lilium lancifolium* Thunb [J]. *Food Chem*, 2015, 169: 430-438.
- 3 Fu CY(傅春燕), Liu YH(刘永辉), Li MJ(李明娟), et al. Extraction and purification techniques and antidepressant activity of total saponins from bulbs of *Lilium brownii* [J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2012, 24: 682-686.
- 4 Li YF(李玉帆), Ming J(明军), Wang LG(王良桂), et al. Research progress on basic nutritional and bioactive substances of lily [J]. *China Veget*(中国蔬菜), 2012, 24: 7-13.
- 5 Luo LM(罗林明), Pei G(裴刚), Qin L(覃丽), et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of medicinal *Lilium* plants [J]. *Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol*(中药新药与临床药理), 2017, 28: 825-837.
- 6 Chinese Pharmacopoeia Commission(国家药典委员会). *Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Vol I*(中华人民共和国药典:第一部) [M]. Beijing: Chinese Medical Science and Technology Press, 2015: 132.
- 7 Koch K, Havermann S, Büchter C, et al. Caenorhabditis elegans as model system in pharmacology and toxicology: effects of flavonoids on redox-sensitive signalling pathways and ageing [J]. *The Scientific World J*, 2014.
- 8 Liu YJ(刘一杰), Xue YC(薛永常). The research progress of flavonoids in plants [J]. *China Biotechnol*(中国生物工程杂志), 2016, 36(9): 81-86.
- 9 Zhang LM(张黎明), Li RC(李瑞超), Hao L(郝利), et al. Response surface methodology for optimization of extracting total flavonoids from maca leaves and antioxidant evaluation [J]. *Mod Food Sci Technol*(现代食品科技), 2014, 30: 233-239.
- 10 Duan ZW(段宙位), Li WG(李维国), Dou ZH(窦志浩), et al. Extraction and antioxidant activity of flavonoids from *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg leaves [J]. *Food Sci*(食品科学), 2015, 36(6): 45-50.
- 11 Zhong WF(钟尉方), Wang YH(王岳鸿), Liu HY(刘红英). Optimization of extraction process of total flavonoids from *Suaeda salsa* by response surface methodology [J]. *J Nucl Agric Sci*(核农学报), 2015, 29: 1135-1141.
- 12 Niu LX(牛立新), Li ZN(李章念), Li HJ(李红娟), et al. Study on ultrasonic wave extraction of flavonoids from the bulb of *Lilium lancifolium* [J]. *J Chin Med Mater*(中药材), 2007, 30(1): 85-88.
- 13 Wang RF(王润丰), Niu LX(牛立新), Zhang YL(张延龙), et al. Antioxidant ability of flavonoids from wild *Lilium lancifolium* [J]. *Acta Agric Bor-Occid Sin*(西北农业学报), 2011, 20: 152-155.
- 14 Li ZN(李章念). The study of flavone in two edible *Lilium* [D]. Yangling: Northwest Agriculture and Forestry University(西北农林科技大学), 2007.
- 15 Jia ZS, Tang MC, Wu JM. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals [J]. *Food Chem*, 1999, 64: 555-559.
- 16 Liu G, Xu S, Chen L. Chemical composition and bioactivities of a water-soluble polysaccharide from the endodermis of shaddock [J]. *Int J Biol Macromol*, 2012, 51: 763-766.
- 17 Zhang Z, Lyu G, Song T, et al. Comparison of the preliminary characterizations and antioxidant properties of polysaccharides obtained from *Phellinus baumii* growth on different culture substrates [J]. *Carbohyd Polym*, 2015, 132: 397-399.
- 18 Wang BL(王布雷), Wang YJ(王玉洁), Li YMH(李杨美汇), et al. Antioxidant and antimicrobial activities of polysaccharide from *Olea europaea* L. leaf [J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2016, 28: 1284-1288.
- 19 Robak J, Gryglewski RJ. Flavonoids are scavengers of superoxide anions [J]. *Biochem Pharmacol*, 1988, 37: 837-841.
- 20 Mustafa A, Turner C. Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plants extraction: a review [J]. *Anal Chim Acta*, 2011, 703(1): 8-18.
- 21 He JK(何佳珂), Yu Y(于洋), He XJ(何西敬), et al. Research progress on pharmaceutical metabolism of flavonoids [J]. *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 2010, 21: 2789-2794.
- 22 Wang H(王欢), Guo J(郭捷), Zhou YL(周云雷). Optimization of two extraction processes for flavonoids from *Podocarpus nagi* leaves [J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2016, 28: 409-415.
- 23 Prommuak C, De-Eknamkul W, Shotipruk A. Extraction of flavonoids and carotenoids from Thai silk waste and antioxidant activity of extracts [J]. *Sep Purif Technol*, 2008, 62: 444-448.
- 24 Zhang RC(张润楚), ZHT(郑海涛), Lan Y(兰燕). Experiments: planning, analysis, and parameter design optimization(试验设计与分析及参数优化) [M]. Beijing: China Statistics Press(中国统计出版社), 2003.
- 25 Scherer R, Godoy HT. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method [J]. *Food Chem*, 2009, 112: 654-658.
- 26 Schraudner M, Moeder W, Wiese C, et al. Ozone-induced oxidative burst in the ozone biomonitor plant, tobacco Bel W3 [J]. *Plant J*, 1998, 16: 235-245.
- 27 Zeng WC(曾维才), Shi B(石碧). Common methods of antioxidant activity evaluation for natural products: a review [J]. *Chem Ind Eng Prog*(化工进展), 2013, 32: 1205-1213, 1274.
- 28 Halliwell B, Murcia MA, Chirico S, et al. Free radicals and antioxidants in food and *in vivo*: what they do and how they work [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 1995, 35(1-2): 7-20.