

花生植株类黄酮提取技术优化研究

孙爱清¹, 万勇善^{1*}, 孙利¹, 张杰道²

(1. 山东农业大学农学院/作物生物学国家重点实验室/山东省作物生物学重点实验室, 山东 泰安, 271018;

2. 山东农业大学生命科学学院, 山东 泰安, 271018)

摘要: 分别以花生叶片、根系为材料, 研究提取剂、料液比、提取时间、提取温度等因素对类黄酮提取效率的影响。结果表明, 花生叶片根系干样类黄酮提取的最佳条件是: 以 70% 乙醇作为提取剂, 料液比为 1: 233, 25℃ 黑暗振荡提取 18h, 或者 70% 乙醇, 60℃ 提取 1h。花生叶片鲜样类黄酮提取的最佳条件是: 以无水乙醇作为提取剂, 料液比为 1: 40, 在 25℃ 黑暗条件下提取 18h, 或者 80℃ 提取 1h。最后过滤提取液, 用 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 显色法进行类黄酮含量测定。不同花生品种叶片类黄酮含量差异显著, 其变异范围为 2.97 ~ 11.1 mg/g_{DW} , 正常生长条件下农大 818、大白玉、花育 20 号等品种叶片类黄酮含量较高。

关键词: 花生; 类黄酮; 提取技术

中图分类号: S38, S565.2 文献标识码: A 文章编号: 1007-9084(2015)04-0554-07

Optimization of extraction technology of flavonoids in peanut plant

SUN Ai-qing¹, WAN Yong-shan^{1*}, SUN Li¹, ZHANG Jie-dao²

(1. State Key Laboratory of Crop Biology/Shandong Key Laboratory of Crop Biology/
College of Agronomy, Shandong Agricultural University, Taian 271018, China;

2. College of Life Sciences, Shandong Agricultural University, Taian 271018, China)

Abstract: To optimize the extraction technology of peanut flavonoids, the effects of extraction solvent, solid-liquid ratio, extraction time and temperature on flavonoids extraction rate were determined by using peanut leaves and roots. Results showed that the optimum conditions for extracting flavonoids in dry leaves and roots were to shake extraction under dark conditions at 25℃ for 18h using 70% ethanol as extraction solvent with 1: 233 of solid-liquid ratio. Alternatively, peanut flavonoids were extracted using 70% ethanol at 60℃ for 1h. For fresh leaves of peanut, the optimum extracting conditions were to shake extraction under dark conditions at 25℃ for 18h using 100% ethanol with 1: 40 of solid-liquid ratio. Alternatively, peanut flavonoids were extracted using 100% ethanol with 1: 40 of solid-liquid ratio at 80℃ for 1h. Finally, the extract solution was filtrated and used for measurement of flavonoids by $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ colorimetry. Total flavonoids contents in leaves of different peanut cultivars showed significant differences, ranged from 2.97 to 11.1 mg/g_{DW} . Much higher flavonoids contents were detected in Nongda818, Dabaiyu and Huayu20.

Key words: Peanut; Flavonoids; Extraction technology

黄酮类化合物 (flavonoids), 又称类黄酮, 泛指两个苯环通过中央三碳链相互联结而成的具有 C6-C3-C6 结构的一系列化合物。类黄酮广泛存在于植物界中, 有良好的抗氧化性能和消除自由基、抗肿瘤、抗突变的作用^[1]。当外界环境改变时, 类黄

酮浓度的提高可以作为植物抵抗外界不利环境的重要保护机制。研究表明, 在植物代谢过程中, 黄酮类化合物具有组织、发育和环境因子特异性, 参与植物生态防御, 并担当生殖过程的信使^[2]。除遗传和生物因素外, 影响植物中黄酮类成分生物合成的主要

收稿日期: 2015-01-21

基金项目: 国家自然科学基金(31101177); 山东省自然科学基金(ZR2011CQ027)

作者简介: 孙爱清(1974-), 女, 山东青州人, 讲师, 博士, 主要从事种子生物学与作物逆境机理研究, E-mail: saqssh@sdau.edu.cn

* 通讯作者: 万勇善(1960-), 男, 教授, 博士生导师, 主要从事花生栽培与遗传育种研究, E-mail: yswan@sdau.edu.cn

环境因素有光照、温度、CO₂ 浓度、矿物营养和土壤水分等^[3]。

花生是我国最重要的油料作物和经济作物,种植面积在 5 大油料作物中居首位。花生植株中含有丰富的黄酮类化合物,其中花生叶片中含量最高,其次是茎和壳^[4]。邓斌等^[5]证明花生壳中类黄酮有较强的自由基清除能力和一定的抗脂质过氧化能力。汪海峰等^[6]以甲醇作为溶剂,以聚酰胺层析法对花生壳黄酮成分进行了研究,并分离得到了木犀草素,含量约为 0.30%。杨增明等^[7]测定了全国 17 个产地花生壳药材中的总黄酮,含量在 0.25% ~ 1.42% 之间。丁爱凤等^[8]对我国 8 个省区的 120 份不同品种、类型花生壳中木犀草素含量进行了测定,其含量为 0.050% ~ 0.475%,含量高低相差可达 9 倍以上;龙生型和普通型花生壳中木犀草素含量较低,中间型、多粒型和珍珠豆型含量较高。另外,同一类型花生在不同地区种植,花生壳中木犀草素含量也有明显差异^[8]。不同成熟度的花生壳总黄酮含量在 4.76 ~ 13.24mg/g 之间^[9],14 个不同类型的白皮、红皮、黑皮、彩色、普通种皮的花生籽仁中总黄酮含量,表现为基因型间差异显著,相同品种不同籽仁部位总黄酮、维生素 C 等抗氧化物质含量差别较大,品种的抗氧化活性与总氨基酸和总黄酮含量间呈显著正相关^[10]。

总黄酮的提取和测定方法一直是总黄酮研究的一个关键问题。目前应用最广的分析方法是分光光度法和高效液相色谱法。前人已对野生金荞麦、紫叶矮樱、柑桔皮、月季果、忍冬叶及四种药用植物^[11~16]等类黄酮提取技术进行了较为全面的研究,涉及醇类提取法、热水提取法、碱液提取法、超声波辅助提取法、微波辅助法等。

前人对花生壳类黄酮的提取工艺、成分测定开展了大量研究工作^[5,17~20],但对于花生叶片、根系中类黄酮提取技术研究较少。邓保炜等^[4]研究了提取条件与花生植株不同部位黄酮提取量的关系,结果表明,花生植株中黄酮类物质的最佳提取工艺为:乙醇浓度 60%,提取温度 65℃,超声时间为 20min,料液比为 1g:40mL。但其提取工艺较为繁琐,包括超声波提取、过滤、减压浓缩、石油醚萃取等步骤。

为了探索更加简便高效的花生叶片、根系类黄酮提取技术,本研究以花生干叶片、干根系和鲜叶片为材料,研究提取剂种类、提取剂浓度、料液比、提取时间、提取温度等因素对类黄酮提取率的影响,确定了花生叶片根系类黄酮提取的优化技术,以期为花

生类黄酮资源的开发利用、花生类黄酮抗逆机理的研究与应用提供依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

花生品种:丰花 5 号、农大 818、大白玉、山花 7 号、丰花 2 号、花育 20 号、白珍珠、四粒红、如皋西洋生、丰花 4 号、白沙 1016 等。花生叶片、根系的类黄酮提取技术研究以丰花 5 号为材料。

选择饱满、整齐一致的花生种子胚根端向下置于砂床中,25℃发芽室中光照培养,每天定时加水,保持湿润,花生幼苗正常培养 14d 后取样。选取植株第一、第二复叶,冲洗干净的侧根为样品,装于信封中,105℃杀青 30min,80℃烘至恒重,研磨过 100 目筛,装于 10mL 离心管中备用。

1.2 方 法

1.2.1 类黄酮标准曲线的制作 参照贾长虹等^[14]和邓保炜等^[4]的方法制作类黄酮标准曲线。以 80% 乙醇配制芦丁溶液(0.25mg/mL)。准确吸取芦丁标准溶液 0.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0、12.0、14.0、16.0mL 于 50mL 容量瓶中;加 5% NaNO₂ 2.5mL,混匀,放置 6min;加入 10% Al(NO₃)₃ 2.5mL,混匀,放置 6min;加 4% NaOH 20.0mL,加 80% 乙醇定容至 50mL,摇匀,放置 15min。以 80% 乙醇为空白,在 510nm 下测定吸光值。然后以芦丁含量(mg/mL)为横坐标,吸光度(OD₅₁₀)为纵坐标,绘制标准曲线,得回归方程为: $y = 10.836x - 0.0183$,相关系数 $R^2 = 0.9999$ 。

1.2.2 花生类黄酮的提取和含量测定 准确称取花生干叶片或干根系 0.050g 于 15mL 离心管,每个处理设置 3 个重复。分别按试验设计加入相应提取剂,放入 25℃恒温振荡培养箱中黑暗振荡提取不同时间,速度设定为 140r/min。达到预定提取时间后,将全部提取物转移到放有滤纸的漏斗上过滤,收集滤液。

取滤液 5mL 于 15mL 试管,依次加入 0.5mL 5% NaNO₂ 溶液,混匀静置 6min;加入 0.5mL 10% Al(NO₃)₃ 溶液,混匀静置 6min;加入 4.0mL 4% NaOH 溶液,混匀静置 15min,以 70% 乙醇代替滤液制作两支空白对照进行分光光度计调零,于 510nm 处测定样品吸光值,通过标准曲线计算类黄酮含量(单位:mg/g_{DW})。

1.3 试 验 设 计

1.3.1 提取剂种类 分别选用甲醇、无水乙醇、丙酮、1% 盐酸、1% 盐酸甲醇、1:1 乙醇丙酮、50% 乙

醇、60%乙醇、70%乙醇、80%乙醇、90%乙醇作为提取剂。称取花生干叶片、干根系 0.050g, 加入 8 mL 提取剂; 或者称取花生鲜叶片的叶圆片 0.20g, 加入 8mL 提取剂。每个处理均为 3 次重复。以不同提取剂提取 24h 后, 测定类黄酮含量。

1.3.2 料液比 花生干叶片类黄酮提取试验, 设定干样重量与提取液的体积比为 1: 100、1: 200、1: 300、1: 400、1: 500, 随后进一步设定 1: 200、1: 233、1: 266、1: 300。

花生鲜叶片类黄酮提取试验, 设定鲜样重量与提取液的体积比为 1: 10、1: 20、1: 30、1: 40、1: 50、1: 60。分别称取不同重量鲜叶片的叶圆片, 加入 8mL 70%乙醇, 25℃振荡提取 24h 后测定类黄酮含量。

1.3.3 提取时间 设定 8 个提取时间, 分别为提取 3、6、9、12、15、18、21 和 24h。使用花生干叶片提取类黄酮, 料液比为 1: 233(干样 0.030g, 加 7mL 70%乙醇); 使用鲜叶片提取类黄酮, 料液比为 1: 40(0.20g 鲜样, 加 8mL 100%乙醇), 25℃恒温振荡提取至规定时间, 取上清液进行显色反应, 进行类黄酮含量的测定。

1.3.4 提取温度 设置 7 个水浴提取温度(25、40、50、60、70、80 和 90℃) 进行花生类黄酮的提取。使用花生干叶片提取类黄酮, 料液比为 1: 233(干叶片 0.030g, 加 7mL 70%乙醇); 使用花生鲜叶片提取类

黄酮, 料液比为 1: 40(鲜叶片 0.20g, 加 8mL 无水乙醇)。置于不同温度下黑暗提取 1h(中间振荡混匀), 过滤提取液, 进行类黄酮含量的测定。

2 结果与分析

2.1 花生干叶片干根系类黄酮提取技术优化

2.1.1 提取剂对花生干叶片干根系类黄酮提取效率的影响 以丰花 5 号干叶片、干根系为材料, 分别使用甲醇、无水乙醇、丙酮、1% 盐酸、1% 盐酸甲醇、1:1 乙醇丙酮等 6 种提取剂进行类黄酮提取处理, 研究不同提取剂对花生叶片、根系类黄酮的提取效果。

花生叶片类黄酮提取结果分析表明, 以甲醇作为提取剂提取效率最高, 丰花 5 号叶片类黄酮提取率达到 9.28mg/g_{DW}(图 1)。其次, 1% 盐酸甲醇提取效率也较高, 类黄酮提取率达到 9.04mg/g_{DW}。

与叶片相比, 根系中类黄酮含量较低。以 1% 盐酸甲醇对花生根系类黄酮提取效率最高, 类黄酮提取率为 2.26mg/g_{DW}; 甲醇提取效率次之, 为 1.76 mg/g_{DW}(图 1)。综合上述结果: 不同提取剂对花生类黄酮提取效果有较大差异, 甲醇和 1% 盐酸甲醇对花生干叶片、干根系类黄酮提取效果均较好。考虑到甲醇有一定毒性, 进一步研究了不同浓度乙醇对花生叶片、根系类黄酮提取的效果。

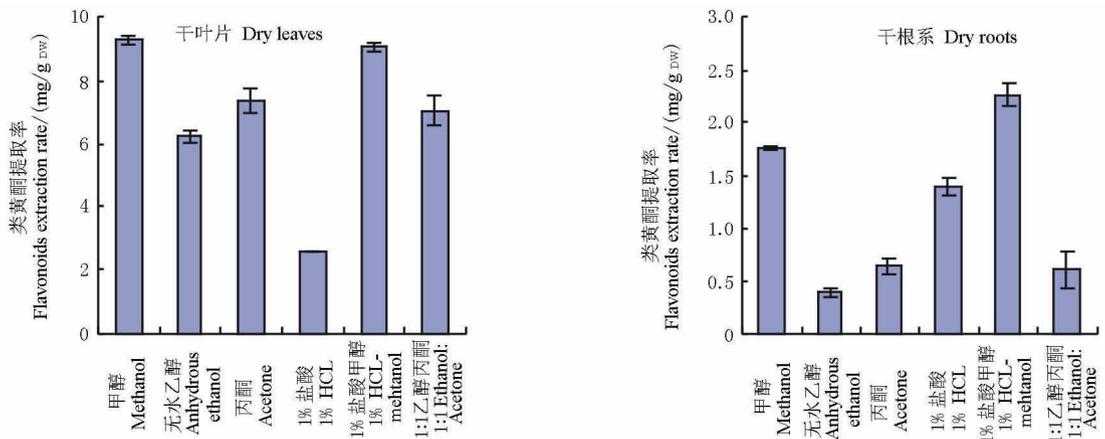


图 1 提取剂对花生干叶片、干根系类黄酮提取率的影响

Fig. 1 Effects of extraction solvent on flavonoids extraction rate in dry leaves and roots of peanut

2.1.2 乙醇浓度对花生干叶片干根系类黄酮提取效率的影响 以不同浓度乙醇对花生干叶片进行类黄酮提取, 结果表明随着乙醇浓度增加, 类黄酮提取率逐渐升高(图 2)。60%乙醇提取获得的类黄酮提取率较高, 显色反应后溶液呈红色, 无叶绿素干扰。当乙醇浓度达到 70% 时, 花生叶片类黄酮提取率最高, 达到 8.10mg/g_{DW}, 此时溶液中开始出现叶绿素。随着乙醇浓度继续增加, 叶绿素浓度越来越高, 类黄

酮提取率下降。90%乙醇获得的类黄酮提取率与 60%乙醇提取率相当。

对花生干根系的测定结果表明, 根系中类黄酮提取率显著低于花生叶片。不同浓度乙醇提取效果比较, 70%乙醇对类黄酮的提取效率最高(图 2)。综合上述结果, 选择 70%乙醇作为花生干叶片和干根系的类黄酮提取剂最为适宜。

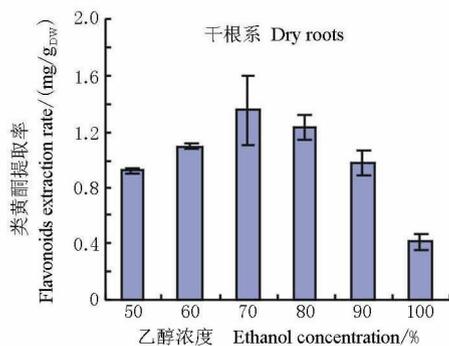
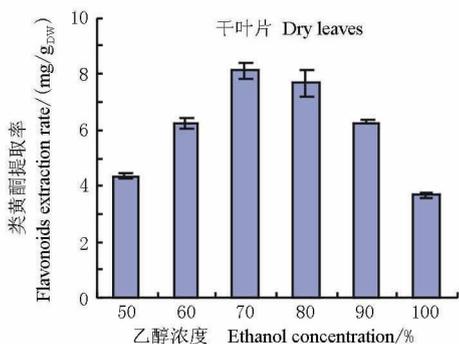


图2 乙醇浓度对花生干叶片、干根系类黄酮提取率的影响

Fig. 2 Effects of ethanol concentration on flavonoids extraction rate in dry leaves and roots of peanut

2.1.3 料液比对花生干叶片类黄酮提取效率的影响 以不同的料液比(样品重量:提取液体积)提取花生叶片类黄酮,测定结果表明,1:100类黄酮提取率较低,料液比1:200~1:300类黄酮提取率均较高,料液比1:400~1:500类黄酮提取率开始明显

降低(图3)。进一步在1:200与1:300之间设定不同的料液比,进行类黄酮提取效率研究,结果表明在料液比为1:233条件下类黄酮提取率极显著高于其他处理(图3)。

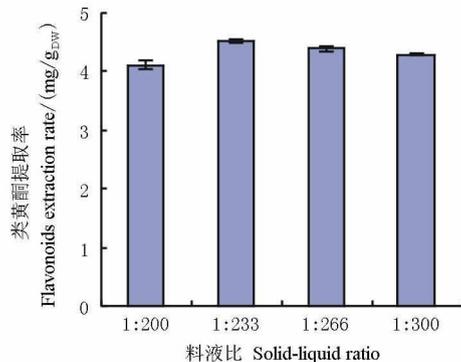
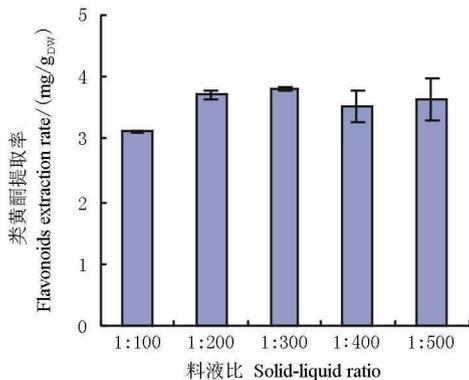


图3 料液比对花生干叶片类黄酮提取率的影响

Fig. 3 Effects of solid-liquid ratio on flavonoids extraction rate in dry leaves of peanut

2.1.4 提取时间和提取温度对花生干叶片类黄酮提取效率的影响 研究了常温条件下提取时间对类黄酮提取效率的影响,表明随着提取时间的延长,类黄酮提取率不断上升,提取18h类黄酮提取率显著高于其他处理(图4)。为了降低类黄酮提取时间过长的的问题,进一步试验了短时间高温提取对类黄酮提取率的影响。以70%乙醇为提取剂,进行不同水浴温度提取1h,结果表明25℃、40℃提取类黄酮提取率较低,水浴温度达50℃后类黄酮提取率极显著增加。50~90℃提取类黄酮率均较高,其中60℃条件下花生叶片类黄酮提取率最高(图4)。

花生干叶片类黄酮提取的最佳条件是:以70%乙醇作为提取剂,料液比为1:233,25℃黑暗振荡提取18h,或者70%乙醇,60℃提取1h。

2.2 花生鲜叶片类黄酮提取技术优化

2.2.1 提取剂对花生鲜叶片类黄酮提取效果的影响 25℃培养14d的丰花5号花生幼苗,取完全展开叶片的叶圆片0.20g,加入不同提取剂8mL,25℃振荡提取24h,进行显色反应,测定类黄酮含量。对花生鲜叶片类黄酮提取率分析表明,甲醇提取率最高(图5)。不同浓度乙醇类黄酮提取率存在明显差异,随着乙醇浓度的增加类黄酮提取率提高,无水乙醇类黄酮提取率最高(图5)。

2.2.2 料液比对花生鲜叶片类黄酮提取效果的影响 以不同料液比进行花生鲜叶片类黄酮提取,称取不同重量的花生鲜叶片,加入8mL70%乙醇,25℃黑暗提取24h,测定类黄酮含量。测定结果表明,1:20和1:40料液比类黄酮提取率均较高,1:50与1:60条件下类黄酮提取率均较低。

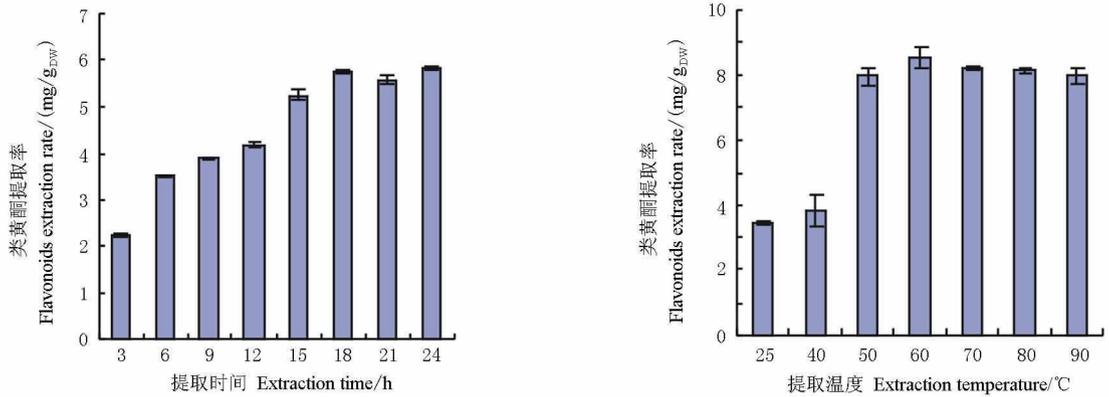


图4 提取时间和提取温度对花生干叶片类黄酮提取率的影响

Fig. 4 Effects of extraction time and temperature on flavonoids extraction rate in dry leaves of peanut

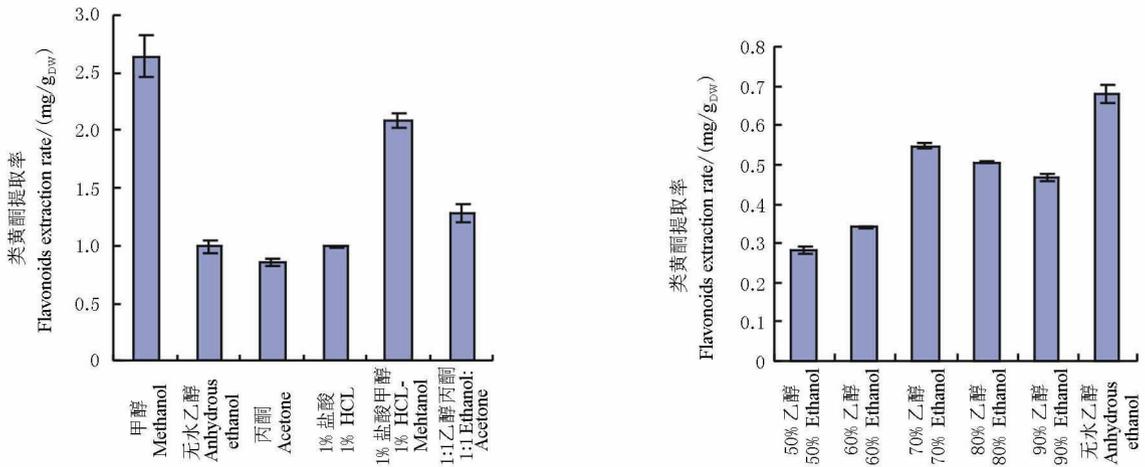


图5 提取剂对花生鲜叶片类黄酮提取率的影响

Fig. 5 Effects of extraction solvent on flavonoids extraction rate in fresh leaves of peanut

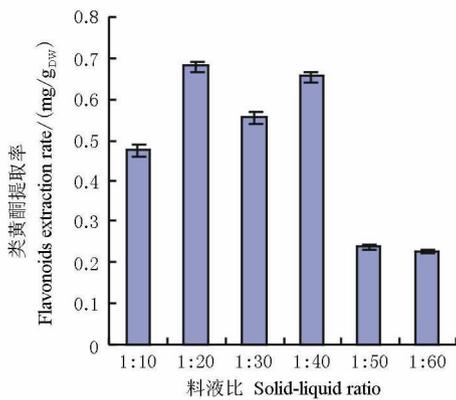


图6 料液比对花生鲜叶片类黄酮提取率的影响
Fig. 6 Effects of solid-liquid ratio on flavonoids extraction rate in fresh leaves of peanut

2.2.3 提取时间和提取温度对花生鲜叶片类黄酮提取效果的影响 对花生鲜叶片类黄酮提取时间研究表明,随着提取时间延长类黄酮提取率不断升高,提取18h类黄酮提取率最高(料液比1:40,25℃)。随着提取时间的进一步延长,类黄酮提取率又开始下降(图7)。对不同提取温度下类黄酮提取率进行

研究表明,25℃、40℃条件下提取1h(料液比1:40)类黄酮提取率较低,达到50℃以后类黄酮提取率开始显著提高,80℃条件下类黄酮提取率极显著高于其他处理。

综合上述结果,花生鲜叶片类黄酮提取的最佳条件是:以无水乙醇作为提取剂,料液比为1:40,在25℃黑暗条件下提取18h,或者80℃提取1h。最后过滤提取液,用 $Al(NO_3)_3$ 显色法进行类黄酮含量测定。

2.3 不同花生品种类黄酮积累差异

不同花生品种叶片类黄酮含量差异显著(图8),花生叶片类黄酮含量变异范围为2.97~11.1mg/g_{DW}。正常生长条件下农大818、大白玉、花育20号等品种类黄酮含量显著高于其他品种。大白玉叶片类黄酮含量高达11.1mg/g_{DW},农大818叶片类黄酮含量也达到9.59mg/g_{DW}。

白珍珠、四粒红类黄酮含量较高,叶片类黄酮含量为6.4~6.6mg/g_{DW}。丰花5号、山花7号、丰花4号、白沙1016类黄酮含量中等,叶片类黄酮含量为

4.4 ~ 5.4 mg/g_{DW}。如皋西洋生、丰花 2 号类黄酮含量较低,叶片类黄酮含量为 3.0 ~ 3.5 mg/g_{DW}。

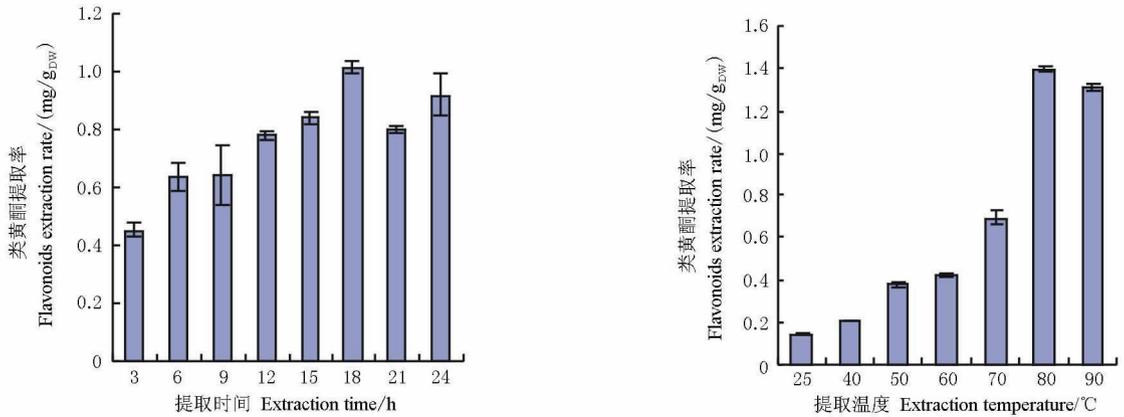


图 7 提取时间和提取温度对花生鲜叶片类黄酮提取率的影响

Fig. 7 Effects of extraction time and temperature on flavonoids extraction rate in fresh leaves of peanut

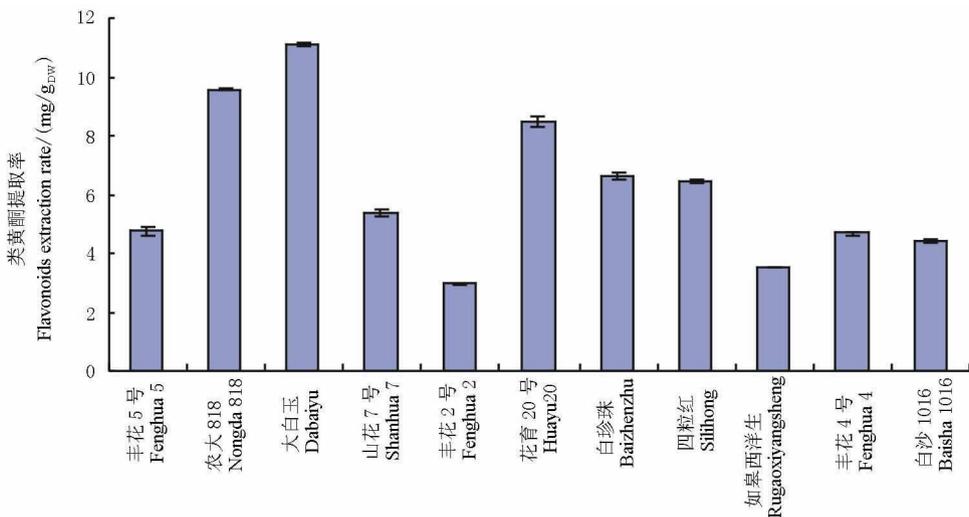


图 8 不同花生品种叶片类黄酮含量比较

Fig. 8 Comparison of flavonoids contents in peanut leaves of different cultivars

3 讨论与结论

前人对花生壳类黄酮的提取工艺、分离鉴定技术、花生壳类黄酮的成分开展了大量的研究工作,对于花生壳资源的开发利用提供了很好的依据。而对于花生植株中类黄酮的提取测定较少有人研究。邓保炜等^[4]研究了花生植株不同部位类黄酮的提取工艺,包括了超声波提取、过滤、减压浓缩、石油醚萃取等步骤,提取过程较为繁琐。本研究参照前人对其它植物材料的类黄酮提取技术,通过对不同提取剂、提取时间、料液比、提取温度等影响类黄酮提取效率的因素进行比较研究,确定了花生叶片、根系类黄酮提取的最佳条件。

本研究探索了 6 种不同的提取剂对花生叶片、根系类黄酮的提取效果,甲醇在所试验的提取剂中效果最好。鉴于甲醇有一定毒性,试验操作过程中

会对操作人员产生毒害,而且如果提取的类黄酮用于食品、医药等方面残留的甲醇也有潜在的毒性,因此一般选用相对比较安全的提取剂乙醇。对不同浓度乙醇类黄酮提取率进行分析,我们发现花生干叶片、干根系和鲜叶片提取类黄酮的最佳乙醇浓度不同。花生干叶片、干根系提取以 70% 乙醇提取率最高,而鲜叶片提取以无水乙醇提取率最高。

花生鲜叶片可以通过打取叶圆片称重的方法,提取之后可以直接吸取上清液用于显色反应,测定类黄酮含量。而花生干叶片具有取样方便、样品便于保存的特点,可以分次取样、集中磨样,统一进行多个样品的类黄酮提取。干叶片提取后如果通过离心法分离提取液,由于样品粉末较细,很难获得清澈的提取液。本试验采用过滤法可以获得清澈的提取液,便于进行后续的显色反应和分光光度计比色。

花生叶片、根系类黄酮提取率存在显著差异,以

甲醇作为提取剂花生叶片类黄酮提取率可达9.28 mg/g_{DW},而根系中类黄酮提取率仅为1.76mg/g_{DW}。通过本研究建立的花生叶片类黄酮提取技术,对不同花生品种干叶片类黄酮含量测定表明,品种间差异极显著,类黄酮含量范围为:2.97~11.1mg/g_{DW}。

值得注意的是,即使同一个花生品种,花生植株生长的光照、温度条件、土壤营养状况、取样时间等均对类黄酮积累量有显著影响。许多文献报道了光照强度、光质、光周期等都会影响植物中类黄酮的积累^[21~23]。本研究发现,在持续照光和光暗交替培养条件下,在一天中不同的时间点取样,花生叶片根系中的类黄酮含量均会发生明显变化(数据未显示)。因此,在花生类黄酮研究中应该保持严格一致的培养条件、固定取样时间,这样所得结果才会更加准确可靠,不同批次试验结果才会有更好的可比性。

本研究确定了花生干叶片、干根系类黄酮提取的最佳条件是:以70%乙醇作为提取剂,料液比为1:233,25℃黑暗振荡提取18h,或者70%乙醇,60℃提取1h。花生鲜叶片类黄酮提取的最佳条件是:以无水乙醇作为提取剂,料液比为1:40,在25℃黑暗条件下提取18h,或者80℃提取1h。最后过滤提取液,用Al(NO₃)₃显色法进行类黄酮含量测定。

参考文献:

- [1] 吕琴,刘金宝.乙醇提取石榴皮总黄酮的最佳工艺条件研究[J].新疆医科大学学报,2007,30(3):225-227.
- [2] Mo Y, Nagel C, Taylor L P. Biochemical complementation of chalcone synthase mutants defines a role for flavonols in functional pollen[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences,1992,89(15):7 213-7 217.
- [3] 徐文燕,高微微,何春年.环境因子对植物黄酮类化合物生物合成的影响[J].世界科学技术,2006,8(6):68-72.
- [4] 邓保炜,杜芳艳.花生植株及其不同部位黄酮含量研究[J].花生学报,2009,38(1):5-9.
- [5] 邓斌,王存嫦,徐安武.微波辅助提取花生壳黄酮类化合物及其抗氧化性研究[J].中国油脂,2009,34(3):54-57.
- [6] 汪海峰,曹锡忠,杨慧萍,等.花生壳甲醇提取物中木犀草素的分离与鉴定研究[J].中国粮油学报,1997,12(3):48-52.
- [7] 杨增明,王文静,龚云麒,等.不同产地花生壳药材中总黄酮含量的测定[J].中国民族民间医药杂志,2004,71(6):359-360.
- [8] 丁爱凤,汪海峰,杨晓蓉,等.不同品种、类型花生壳中

木犀草素含量的初探[J].中国油脂,2005,30(5):51-54.

- [9] 郑柏勤,朱惠洪,梁文权.不同来源的花生壳总黄酮含量测定研究[J].现代食品与药品杂志,2006,16(6):1-3.
- [10] 张智猛,万书波,戴良香,等.不同类型花生品种籽仁部位抗氧化能力及功能成分研究[J].食品与生物技术学报,2009,28(6):741-747.
- [11] 刘光德.野生金荞麦类黄酮次生代谢分子调控研究[D].重庆:西南大学,2007.
- [12] 李云飞,李彦慧,王中华,等.土壤干旱胁迫对紫叶矮樱叶片呈色的影响[J].生态学报,2009,29(7):3 678-3 684.
- [13] 刘立新,张羽男,沙靖全,等.柑桔皮中黄酮类化合物的提取及抗氧化作用研究[J].东北农业大学学报,2010,41(4):103-107.
- [14] 贾长虹,常丽新,赵京,等.月季果中黄酮的提取及其对自由基清除作用的研究[J].食品工业科技,2010,31(01):168-170,290.
- [15] 马俊利,李宁,李锐.忍冬叶中黄酮类成分的分离与鉴定[J].沈阳药科大学学报,2010,27(1):37-39.
- [16] 于文广,王郝,白莹,等.四种药用植物花总黄酮类物质提取及抗氧化性研究[J].中国野生植物资源,2010,29(2):44-47.
- [17] 聂静然.花生壳中木犀草素的分离提纯及其抑菌性能研究[D].南宁:广西大学,2008.
- [18] 唐丽萍,龚云麒,吴小燕,等.不同产地花生壳中木犀草素的HPLC测定[J].花生学报,2005,34(2):1-4.
- [19] 姚利,林玉萍,龚云麒,等.花生壳中5,7-二羟基色原酮及圣草酚的HPLC测定[J].食品科技,2006(3):116-118.
- [20] 黎碧娜,曾庆赞,陈楚光.从花生壳中提取天然抗氧化成分的研究[J].现代化工,1995(10):31-33.
- [21] 蔡葛平.光周期、土壤水分及外源激素对黄芩中黄酮类成分积累的影响及其分子机制[D].上海:复旦大学,2008.
- [22] Tattini M, Galardi C, Pinelli P, et al. Differential accumulation of flavonoids and hydroxycinnamates in leaves of *Ligustrum vulgare* under excess light and drought stress[J]. New Phytologist,2004,163(3):547-561.
- [23] 王华田,谢宝东,姜岳忠,等.光照强度对银杏叶片发育及黄酮和内酯含量的影响[J].江西农业大学学报,2002,24(5):617-622.