

蔗糖处理对费菜黄酮含量及其抗氧化性的影响

胡月, 王鸿飞, 董栓泉, 程佑声, 许凤, 邵兴锋, 李和生

(宁波大学食品科学与工程系, 浙江宁波 315211)

摘要: 本文以费菜为研究对象, 采用不同浓度 5、10、20、30、40 mmol/L 蔗糖培养液对费菜嫩枝进行培养, 选取费菜黄酮含量富集作用较强的蔗糖培养液, 并研究该浓度下费菜的抗氧化性。结果表明: 选取 20 mmol/L 蔗糖培养液对费菜培养, 对黄酮有较好的富集作用, 该浓度培养液的费菜黄酮含量(鲜重)平均值为对照组的 1.58 倍; 蔗糖处理明显提升了费菜 DPPH 自由基清除能力及总酚的含量; 与对照组相比, 蔗糖处理组苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia-lyase, PAL)酶活力也一直保持较高水平; 超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase, APX)、过氧化物酶(peroxidase, POD)等抗氧化酶活力在外源蔗糖的影响下均高于对照组。这些结果表明了外源蔗糖处理较好地提高了费菜黄酮含量和抗氧化性, 为费菜黄酮的富集提供了新的思路和理论依据。

关键词: 费菜; 黄酮; 蔗糖; 抗氧化

文章编号: 1673-9078(2016)1-250-255

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.1.039

Effect of Sucrose Treatment on Flavonoid Content and Antioxidant Activity of *Sedum aizoon* Leaves

HU Yue, WANG Hong-fei, DONG Shuan-quan, CHENG You-sheng, XU Feng, SHAO Xing-feng, LI He-sheng

(Department of Food Science and Engineering, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Abstract: Young twigs from *Sedum aizoon* L. were incubated in media containing various concentrations of sucrose (5, 10, 20, 30, and 40 mmol/L). The medium containing 20 mmol/L sucrose exhibited a relatively good flavonoid accumulation during the incubation, with the flavonoid content (wet weight) of *Sedum aizoon* L. cultured in this medium being 1.58 times greater than that of the control group. This medium was selected to study the antioxidant capacity of *Sedum aizoon* L. Sucrose treatment significantly increased the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical-scavenging activity and total phenolic content. The sucrose-treated group had higher activities of superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (APX), and peroxidase (POD) than the control group due to the impact of exogenous sucrose. In addition, the phenylalanine ammonia-lyase (PAL) activity for the sucrose-treated group was higher than that of the control group. These results indicate that sucrose treatment enhances flavonoid content and antioxidant activity. These results provide a new approach and a theoretical basis for flavonoid accumulation using *Sedum aizoon* L.

Key words: *Sedum aizoon* L.; flavonoids; sucrose; antioxidant activity

费菜 (*Sedum aizoon* L.), 又名养心菜, 救心草, 为景天科 (*Crassulaceae*) 景天属 (*Sedum*) 多年生肉质草本植物, 主产于四川、湖北、浙江、江苏、山东等地, 以根及全草入药, 为秦岭“太白七药”之一, 具有散瘀止血、安神、解毒之功效, 主要含有黄酮与酚

收稿日期: 2015-04-22

基金项目: 国家自然科学基金 (31301574); 宁波市自然科学基金 (2013A610159、2015A610273); 宁波大学学科项目 (xk11344); 宁波大学人才引进项目 (ZX2012000031); 宁波大学校科研基金项目 (XYL14025); 国家科技部星火计划 2014GA701047; 浙江省自然科学基金 (LY16C200003)

作者简介: 胡月 (1990-), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品科学

通讯作者: 王鸿飞 (1964-), 男, 教授, 从事农产品加工, 食品科学方面的研究

类、生物碱、谷甾醇、景庚庚糖等药用成分^[1]。黄酮类物质具有抗氧化、抑制癌细胞、消炎等作用^[2]。植物体内的黄酮物质的合成, 受诱导子诱导调控, 诱导子可分为生物因子(酵母提取物)和非生物因子(光、辐照、糖)。虽然目前对于诱导子的作用机理尚不明确, 但初步认为外源因子的刺激通过胞内小分子信号物质的传递, 刺激植物内源激素水平变化, 诱导次生物质的合成、积累^[3-4]。目前, 费菜作为一种多功能的绿色保健蔬菜和很好的天然抗氧化物^[5], 得到很多学者的青睐, 但有关费菜的研究主要集中在费菜黄酮类化合物的提取、种类以及其生物活性的评价, 而对于如何利用诱导子对费菜黄酮进行最大富集, 从而提升其抗氧化活性缺乏研究。

糖在植物体中作为能量来源和渗透调节物质, 具有为代谢过程提供前体物质等功能, 近年来有研究表明糖可能跟植物激素类似, 在信号转导途径中作为初级信使参与调控植物的生长和发育^[6]。有研究表明, 蔗糖对花色苷的生物合成有明显正向调控作用, 它作为一种信号分子, 能够特异的诱导花色苷代谢途径酶基因转录水平, 显著促进花色苷的合成^[7]; 而且在外源蔗糖处理青花菜芽可以显著地增加 PAL 活性, 提高其花青素含量; 外源蔗糖处理羽扇豆能够刺激其苯丙烷类代谢, 提高 PAL 酶的活性和异黄酮含量^[8-9]。目前还没有用外源蔗糖的处理方法对费菜黄酮进行富集, 并且对这一现象加以研究。所以本文采用外源蔗糖的培养方式, 以费菜嫩枝为对象, 研究蔗糖处理对费菜黄酮的富集效果, 及对其抗氧化活性与抗氧化酶的影响, 以期对外源蔗糖处理对费菜黄酮含量及其它影响提供理论支持和技术方法。

1 材料和方法

1.1 材料与试剂

费菜 采收嫩苗于江苏省宿迁, 栽种于宁波大学江边实验基地, 选取长势一致的费菜嫩枝, 剪取至 12 cm-15 cm (保留顶端) 进行培养。

DPPH (1,1-二苯基-2-三硝基苯肼), 和光纯药工业株式会社; Folin-Ciocalteu 试剂, 国药集团化学试剂有限公司; 95%乙醇, 上海三鹰化学试剂有限公司; 冰乙酸, 上海试剂四厂昆山分厂; 盐酸, 浙江盘龙化工试剂厂; 愈创木酚, 上海圻明生物科技有限公司; 苯丙氨酸, 美国 SIGMA 公司。

1.2 主要仪器

GZP-450N 型光照培养箱, 上海森信实验仪器有限公司; Cary 50 Scan 紫外分光光度计, 美国瓦里安技术中国有限公司; BPZ11D 分析天平, 德国赛多利斯公司; SB3200D 型超声波清洗机, 宁波新芝生物科技股份有限公司; H2050R 湘仪台式高速冷冻离心机, 湖南长沙湘仪离心机仪器有限公司; DK-S26 电热恒温水浴锅, 上海精宏实验设备有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 蔗糖处理样品

选取长势一致的费菜嫩枝, 剪取至 12~15 cm, 用蒸馏水洗净, 浸没于 75%乙醇 30 s, 再用蒸馏水清洗 2-3 次, 浸入装有 5、10、20、30、40 mmol/L 蔗糖溶液 (含有体积分数 0.05% NaClO) 的水培箱中, 以不

含蔗糖的培养液 (含有体积分数 0.05% NaClO) 作为对照组, 每隔 48 h 换水一次, 放置于 22 ± 2 °C, 1500lx, 12 h/12 h (昼/夜) 光照培养箱中培养, 培养 10 d。每隔 1 d 取样一次, 共取样 5 次, 采用随机取样法, 每个处理随机取样 6 株, 将费菜叶剪取下来, 用液氮冷冻, 再放置于 -40 °C 冰箱保存用于黄酮含量的测定。

选取费菜黄酮富集量最大的蔗糖培养液浓度, 按上述方法再培养长势一致的费菜嫩枝, 放置于 22 ± 2 °C, 1500lx, 12 h/12 h (昼/夜) 光照培养箱中培养, 培养 10 d。每隔 1 天取样一次, 共取样 5 次, 采用随机取样法, 每个处理随机取样 6 株, 将费菜叶剪取下来, 用液氮冷冻, 再放置于 -40 °C 冰箱保存用于抗氧化等指标的测定。

1.3.2 费菜总黄酮的提取及含量测定

费菜黄酮的提取采用乙醇超声波提取法^[10], 称取 1 g 的费菜样品于研钵中, 用 50 mL 90%乙醇研磨提取, 匀浆, 超声时间 50 min, 超声温度 60 °C, 用乙醇浸提 2 h (pH 9), 浸提温度 60 °C, 抽滤后制得费菜总黄酮提取液冷藏备用。费菜黄酮测定采用紫外分光光度法, 以芦丁为标准品, 通过标准曲线计算出费菜黄酮的含量, 测定波长为 290 nm, 含量以 mg/g (鲜重) 表示。

所得标准曲线如下图所示:

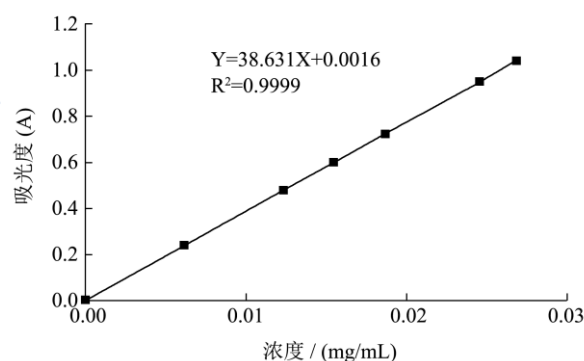


图1 芦丁标准曲线

Fig.1 Standard curve for rutin

1.3.3 1,1-二苯基苦基苯肼自由基 (DPPH) 清除能力测定

选取最适浓度蔗糖处理的费菜, 称取 0.5 g 样品于研钵中, 用 5 mL 50% (体积分数) 乙醇研磨提取, 匀浆, 在 4 °C 下 12000 r/min 离心 20 min, 收集上清液。取上清液 0.1 mL 与 1.9 mL DPPH 溶液混匀, 常温避光保存 20 min, 用比色皿在 517 nm 波长处, 测定其吸光度值, 根据标准曲线计算 DPPH 的摩尔浓度, 从而计算出 DPPH 的清除率。

1.3.4 费菜总酚含量的测定

标准曲线的绘制: 称取 0.025 g 焦性没食子酸, 少

量水溶解,加蒸馏水定容到 250 mL,取 8 支带有塞子的试管,分别加入 0、1、2、3、4、5、6、7 mL 的没食子酸标准液,用蒸馏水定容至 10 mL,吸取标准液 1 mL,各加 1 mL Folin 试剂、3 mL 体积分数 10% Na_2CO_3 及 5 mL 蒸馏水,在沸水中加热 1 min,冷却并稀释至 20 mL,室温放置 30 min,测定其在 765 nm 处的吸光值,制作标准曲线。

采用福林酚法测定费菜总酚含量,选取最适浓度蔗糖处理的费菜,称取 1 g 样品于研钵中,用 70%(V/V) 的乙醇研磨提取,于 80 °C 水浴 1 h,在 12000 r/min 离心 20 min 收集上清液。吸取上清液 1 mL,蒸馏水 5 mL, Folin 试剂 1 mL, 10% Na_2CO_3 溶液 3 mL,混匀,30 °C 保温 1 h,测其在 765 nm 处的吸光值。

1.3.5 抗氧化酶活性的测定

苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 测定:称取 1 g 样品,用 0.2 mol/L 硼酸缓冲液 (pH 8.7) 冰浴研磨提取,在 4 °C 10000 r/min 离心 10 min 得粗酶液,反应液总体积 5 mL (内含 0.2 mol/L 硼酸缓冲液 3.9 mL, 120 $\mu\text{mol/L}$ L-苯丙氨酸 1 mL,粗酶液 0.1 mL) 40 °C 水浴反应 60 min,加 0.2 mL 6 mol/L HCl 终止反应,290 nm 测定 OD 值,以每 min 内 A_{290} 变化 0.01 为 1 个 PAL 活性单位,用 U/g FW min 表示。

过氧化物酶 (POD) 测定:采用愈创木酚法,称取 1 g 样品,用 0.2 mol/L PBS (pH 7.8) 冰浴研磨提取,在 4 °C 10000 r/min 离心 10 min 得粗酶液,5 mL 反应液中分别含有 0.2 mol/L PBS (pH 7.8)、体积分数 0.3% 愈创木酚、体积分数 2% H_2O_2 及 100 μL 酶提取液。连续测定 470 nm 处 OD 值 2 min。试验重复 3 次。以每 min 内 A_{470} 变化 0.01 为 1 个 POD 活性单位,用 U/g FW min 表示。

抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 测定:称取 1 g 样品,用 0.05 mol/L PBS (pH 7.0) 冰浴研磨提取,在 4 °C 10000 r/min 冷冻离心 10 min 得粗酶液,上清液作酶活性分析用。APX 活性测定按 Vicente^[11] 的方法,连续记录室温下 A_{290} 的变化。以每 min 内 A_{290} 变化 0.01 为 1 个 APX 活性单位,用 U/g FW min 表示。

超氧化物歧化酶 (SOD) 测定:采用氮蓝四唑 (NBT) 光化还原法^[12],称取 1 g 样品,用 0.05 mol/L PBS (pH 7.8) 冰浴研磨提取,在 4 °C, 10000 r/min 冷冻离心 10 min 得粗酶液,3 mL 反应液中分别含有 0.05 mol PBS、130 mmol L- Met、750 μmol NBT、100 μmol EDTA、20 μmol 核黄素及 100 μL 酶提取液。在 4000lx 光照下反应 20 min,测定 560 nm 处 OD 值,试验重复 3 次。以抑制 NBT 光化还原 50% 所需的酶量为 1 个 SOD 酶活性单位,用 U/g FW min 表示。

1.3.6 数据分析

采用 Origin 8.0 进行数据处理分析,用 SPSS 18.0 进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 蔗糖处理对费菜黄酮含量的影响

不同浓度的蔗糖溶液处理对费菜黄酮含量的影响如图 2 所示。

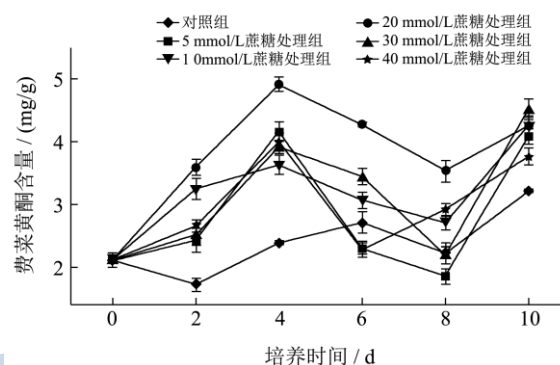


图 2 蔗糖处理对费菜黄酮含量的影响

Fig.2 Effect of sucrose treatment on flavonoid content of *Sedum aizoon* L.

费菜采用浸茎法培养,通过蔗糖处理筛选出适宜的糖浓度培养液,使黄酮富集量达到最高。如图 2 所示,随着培养天数的增加,费菜生长中黄酮含量积累呈“S”形变化,先升高再降低,再上升的趋势。前期费菜黄酮积累较快,所有蔗糖处理组均在第 4 d 达到一个高峰,而对照组相对滞后,在第 6 d 达到第一个高峰,中期积累速度放缓,所有样品均在第 8 天降低到一个较低值,后期又有所升高。5 个蔗糖处理组与对照组均有显著性差异 ($P < 0.05$),糖处理的费菜黄酮含量平均值比对照组的高,富集效果最差的 5 mmol/L 蔗糖处理组,比对照组的费菜黄酮含量高 0.47 mg/g (鲜重),富集效果最好的 20 mmol/L 蔗糖处理组,比对照组的费菜黄酮含量高 1.38 mg/g (鲜重),且在第 2、4、8、10 d,20 mmol/L 蔗糖处理组都与 5、10、30、40 mmol/L 蔗糖浓度处理组有显著性差异 ($P < 0.05$)。而且 20 mmol/L 蔗糖处理组在整个费菜生长过程中,除了第 10 d,黄酮积累量始终保持最高。不同蔗糖浓度培养的费菜,黄酮产物有不同程度的积累,20 mmol/L 蔗糖处理组费菜黄酮含量最高,其次是 30 mmol/L 蔗糖处理组、10 mmol/L 蔗糖组,然后是 50 mmol/L 蔗糖组,最后是 5 mmol/L 蔗糖组。所以本试验选取 20 mmol/L 蔗糖为最适宜蔗糖浓度培养液,以此为样品研究其抗氧化活性能力。随着蔗糖浓度的升高,费菜黄酮富集水平不呈线性增高,也说明

蔗糖浓度过高也不利于费菜黄酮的生成。有文献表明^[13], 糖在植物生理活动过程中一般认为是能源、碳源和渗透物质, 参与植物生长周期各个阶段, 蔗糖是可以调控植物生长发育进程的信号分子。本试验也说明了蔗糖对费菜黄酮的合成有一定的促进作用。

2.2 蔗糖处理对费菜 DPPH 自由基清除能力的影响

选取 2.1 筛选出的蔗糖浓度 20 mmol/L 培养的费菜样品, 与对照组费菜进行 DPPH 自由基清除率的对比, 如图 3 所示。

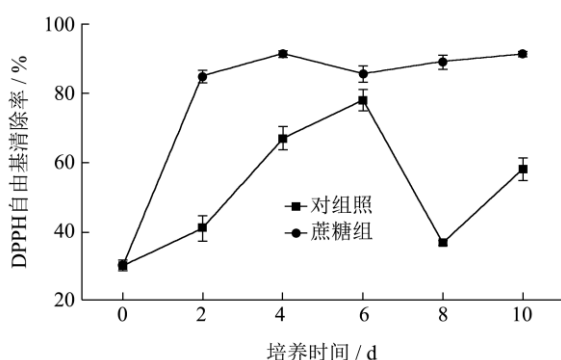


图 3 蔗糖处理对费菜 DPPH 的影响

Fig.3 Effect of sucrose treatment on DPPH radical scavenging activity of *Sedum aizoon* L.

DPPH 清除率是抗氧化重要的指标之一, 随着培养时间的延长, 如图 3 所示, 蔗糖处理组的费菜 DPPH 清除率逐渐增强, 第 2 d 清除率直接达到 91.33%, 高于第 0 d 61.30%, 第 6 d 后趋于平缓; 空白组的费菜 DPPH 清除率为先升高再降低再升高的趋势, 第 6 d 达到最高值 87.96%。蔗糖处理组的费菜 DPPH 清除率始终高于对照组, 且对比于对照组, 蔗糖处理组能保持较长时间以及较高的自由基清除率。蔗糖处理组和对照组之间有显著性差异 ($p < 0.05$)。

2.3 蔗糖处理对费菜总酚含量的影响

选取 2.1 筛选出的蔗糖浓度 20 mmol/L 培养的费菜样品, 与对照组费菜进行总酚含量的对比, 如图 4 所示。

费菜当中含有很多酚类物质, 而许多研究显示, 植物多酚具有较强的清除自由基和抗氧化等重要的生物活性功能。如图 4 所示, 随着培养时间的延长, 蔗糖处理组和空白组的总酚含量都呈先升高后降低的趋势, 并且均在第 8 d 达到最大值。蔗糖处理组的多酚含量一直高于空白组, 两组差值最大为 2.08 mg/g, 最小为 0.55 mg/g, 并且蔗糖处理组显著的 ($P < 0.05$) 高

于空白组, 使得处理组的总酚含量高于空白组。

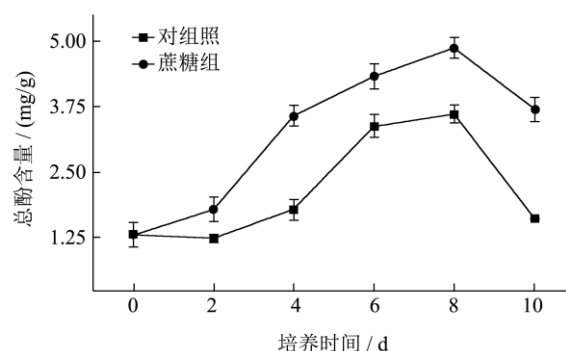
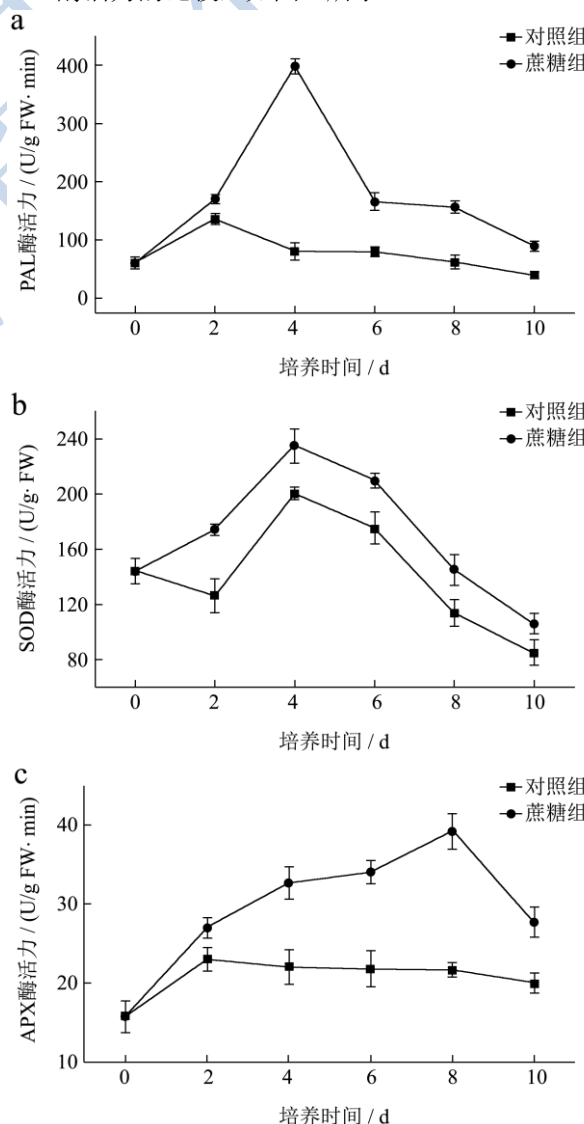


图 4 蔗糖处理对费菜总酚含量的影响

Fig.4 Effect of sucrose treatment on total phenolic content of *Sedum aizoon* L.

2.4 蔗糖处理对费菜抗氧化酶活性的影响

选取 2.1 筛选出的蔗糖浓度 20 mmol/L 培养的费菜样品, 与对照组费菜进行抗氧化酶 SOD、PAL、APX、POD 酶活力的比较, 如图 5 所示。



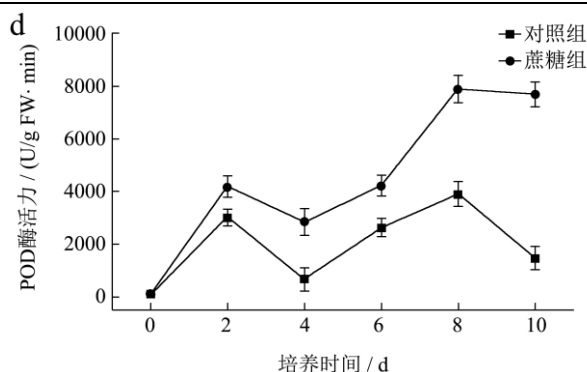


图5 蔗糖处理对费菜 PAL、SOD、APX 和 POD 酶活性的影响

Fig 5 Effect of sucrose treatment on the activities of PAL, SOD, APX and POD of *Sedum aizoon* L.

苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 是催化苯丙烷代谢途径第一步反应的酶, 也是这个途径的关键酶, 对植物有非常重要的生理意义, 而黄酮就是经过苯丙烷代谢途径合成的次生代谢产物之一。从图 5a 中可以看出, PAL 酶活力随着培养时间的延长呈先升高后降低的趋势, 蔗糖处理组在第 4 d 达到一个最高值后开始逐渐下降, 对照组从第 4 d 开始就保持着较低且较平稳的酶活力。蔗糖处理的费菜中 PAL 酶活力相对于对照组, 始终保持比较强的酶活性, 并且两实验组达到 PAL 酶活力高峰的时间不一样, 酶活力值也不同, 蔗糖处理组 PAL 酶活力最高可以达到 397.81 U/gFW min, 对照组最高达到 135.37 U/gFW min, 并且两组之间有显著性差异 ($p < 0.05$)。

超氧化物歧化酶 (SOD) 是细胞内清除活性氧 (O_2^-) 系统中的重要酶, 保护酶组成一个清除活性氧的防御过氧化物系统, 使活性氧的产生和清除处于平衡状态, 从而使细胞免受伤害。从图 5b 可以看出, 蔗糖处理组和对照组整体都呈先升高后降低的趋势, 这种趋势符合一般植物的应急规律, 且均在第 4 d SOD 酶活力达到最高峰, 此时也正值黄酮富集量最高峰, 第 4 d 至第 10 d SOD 酶活力保持着较快速度的下降趋势。图中也可以看出, 蔗糖处理组的 SOD 酶活力始终以及显著高于对照组, 最高值可以达到 234.86 U/g FW, 说明一定浓度的蔗糖处理有促进费菜中 SOD 酶合成的作用。

抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 是以抗坏血酸为电子供体的专一性强的过氧化物酶, 由 APX 组成的抗坏血酸-谷胱甘肽 (AsA-GSH) 循环在植物体内发挥了主要的清除 H_2O_2 的作用。从图 5c 可知, 蔗糖处理组的 APX 酶活力在第 0 d 至第 8 d 逐渐升高并达到最大值, 第 10 d 迅速降低, 对照组在第 2 d 达到一个较高值后逐渐平缓的降低。从图中也可以明显得知蔗糖处理组的 APX 酶活力要一直高于对照组, 最大差值

为 17.50 U/g FW min。虽然从图中可知在培养费菜的过程中 APX 酶活力属于较低水平, 但是一定浓度的蔗糖处理对费菜的 APX 的合成有一定促进作用。

过氧化物酶 (POD) 是果蔬体内普遍存在且活性较高的一种酶, 具有多种功能, 该酶催化以 H_2O_2 为氧化剂的氧化还原反应, 是植物体内的保护酶之一。从图 5d 中可以看出, 随着培养时间的增加, 蔗糖处理组和对照组的 POD 酶活力均呈“S”型增长, 但是与费菜黄酮积累量的趋势不相符。从第 8 d 开始, 两组之间的差值骤然增加, 第 10 d 蔗糖处理组的 POD 酶活力为对照组的 5.16 倍, 并且从图中可以得知蔗糖处理组的 POD 酶活力要显著高于对照组。同时可以得出, POD 酶活力在费菜中有较高的活性, 一定浓度的蔗糖处理更加促进了费菜中 POD 酶的活力。

3 结论

本试验采用 5、10、20、30、40 mmol/L 不同蔗糖浓度培养液对费菜进行培养, 发现 20 mmol/L 蔗糖培养液中的费菜黄酮含量最高, 并且该蔗糖处理组的 DPPH 及总酚含量比对照组有明显的增加。该蔗糖处理组的 PAL 酶活力和抗氧化酶 SOD、APX、POD 酶活力在该浓度外源蔗糖的影响下, 也有不同程度的增加。总体说明了蔗糖处理对费菜黄酮具有一定的富集作用, 并且显著提升了其抗氧化活性和抗氧化酶的活性。这一发现为费菜黄酮的富集提供了新的思路, 并且为这一方法提供了理论依据和技术参数, 同时对将来费菜黄酮的生产和保健等深入利用具有重要的意义。

参考文献

- [1] 中药大辞典编委会. 中药大辞典[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2006
Dictionary Traditional Drugs Editorial Board. Dictionary Traditional Drugs [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 2006
- [2] KOOK S H, SON Y O, JANG Y S, et al. Inhibition of c-Jun Nterminal kinase sensitizes tumor cells to flavonoid Induced-apoptosis through down-regulation of Jun [J]. Toxicol. Appl. Pharmacol., 2008, 227(3): 468-476
- [3] 夏涛, 高丽萍. 类黄酮及儿茶素生物合成途径及其调控研究进展[J]. 中国农业科学, 2009, 42(8): 2899-2908
XIA Tao, GAO Li-ping. Advances in biosynthesis pathways and regulation of flavonoids and catechins [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2009, 42(8): 2899-2908
- [4] 王春丽, 梁宗锁. 外源刺激对植物次生代谢的调节及其信号

- 转导途径研究进展[J].西北植物学报,2009, 29(5): 867-873
- WANG Chun-li, LIANG Zong-suo. Research progress of signal transduction pathway and regulation of secondary metabolism in plant induced by exogenous stimulus [J]. Acta Bot.Boreal.-Occident.Sin., 2009, 29(5): 867-873
- [5] Qizhi Wang, Aoxue Luo, Yijun Fan, et al. *In vitro* antioxidant activity of polysaccharide from *Sedum aizoon* L. extracts [J]. Journal of Medicinal Plants Research, 2011, 5(30): 6604-6608
- [6] Koch K. Sucrose metabolism: regulatory mechanisms and pivotal roles in sugar sensing and plant development [J]. Current Opinion in Plant Biology, 2004, 7(3): 235-246
- [7] Solfanelli C, Poggi A, Loreti E, et al. Sucrose-specific induction of the anthocyanin biosynthetic pathway in *Arabidopsis* [J]. Plant Physiology, 2006, 140(2): 637-646
- [8] Guo R, Yuan G, Wang Q. Effect of sucrose and mannitol on the accumulation of health-promoting compounds and the activity of metabolic enzymes in broccoli sprouts [J]. Scientia Horticulturae, 2011, 128(3): 159-165
- [9] Morkunas I, Marczak L, Stachowiak J, et al. Sucrose-induced lupine defense against *Fusarium oxysporum* Sucrose-stimulated accumulation of isoflavonoids as a defense response of lupine to *Fusarium oxysporum* [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2005, 43(4): 363-373
- [10] 刘飞,王鸿飞,林燕等.费菜总黄酮提取工艺的研究[J].食品工业科技,2011,32(4):252-257
- LIU Fei, WANG Hong-fei, LIN Yan, et al. Study on extraction of total flavonoids from *sedum kamschaticum* fish [J]. Science and Technology of Food Industry, 2011, 32(4): 252-257
- [11] Vicente A R, Martinez G A, Chaves A R, et al. Effect of heat treatment on strawberry fruit damage and oxidative metabolism during storage [J]. Postharvest Biology and Technology, 2006, 40 (2): 116-122
- [12] Toivonen P M A, Sweeney M. Differences in chlorophyll loss at 13 for two broccoli (*Brassica oleracea* L.) cultivars associated with antioxidant enzyme activities [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1998, 46(1): 20-24
- [13] Gibson SI. Control of plant development and gene expression by sugar signaling [J]. Curr Opin Biol, 2005, 8: 93-102