

黑玫瑰水果玉米花青素积累特性、稳定性及生物活性研究

宋肖敏婷^{1,2}, 陈雪³, 王洁^{1,2}, 陈媛媛¹, 杨林¹, 刘倩倩^{1,2}, 陈文俊^{3*}, 陈江^{1,2*}

¹成都中医药大学药学院; ²中药资源系统研究与开发利用国家重点实验室培育基地, 成都 611137;

³成都农业科技职业学院特种玉米研究所, 成都 611130

摘要:以自选黑玫瑰水果玉米品种(黑甜玉8号)为材料,采用分光光度计法和四甲基偶氮唑盐比色法,分析花青素积累特性、稳定性及生物活性。结果表明:黑玫瑰水果玉米在授粉后27、33天花青素含量高于授粉后21天,且玉米籽粒中花青素含量高于其他组织部位;其籽粒经冻干处理提取的花青素含量较高,整体稳定性高于烘干和煮熟处理;温度、pH和氧化还原剂对花青素稳定性都有一定影响;其叶片、茎秆、穗轴、苞叶部位花青素提取物能抑制人B淋巴瘤细胞OCI-LY10和人急性淋巴髓单核细胞白血病MV4-11的增殖,半数抑制浓度(50% inhibitory concentration, IC₅₀)分别为144.2、82.8、123.8、95.6 μg/mL和58.8、12.6、43.0、49.4 μg/mL。

关键词:黑玫瑰水果玉米;花青素;积累特征;稳定性;生物活性

中图分类号:R931.6

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2020)Suppl-0067-06

DOI:10.16333/j.1001-6880.2020.S.010

Study on accumulation characteristics, stability and biological activity of anthocyanin in Black Rose Fruit Maize

SONG Xiao-min-ting^{1,2}, CHEN Xue³, WANG Jie^{1,2},

CHEN Yuan-yuan¹, YANG Lin¹, LIU Qian-qian^{1,2}, CHEN Jun-wen^{3*}, CHEN Jiang^{1,2*}

¹Pharmacy College, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine;

²State Key Laboratory Breeding Base of Research and Development and Utilization of Traditional Chinese Medicine Resources System, Chengdu 611137, China;

³Chengdu Institute of Agricultural Science and Technology, Special Corn Research Institute, Chengdu 611130, China

Abstract: The Black Rose Fruit Maize variety (Black and sweet maize No. 8) is used as the material. The anthocyanin accumulation characteristics, stability and biological activity were analyzed by spectrophotometry and tetrazolium salt colorimetry assay. The results showed that the content of anthocyanin at 27 th and 33th day after pollination was higher than that at day 21, and the content of anthocyanin in maize kernel was much higher than other tissues; the content of anthocyanin extracted by lyophilization treatment of Black Rose Fruit Maize kernels was higher than baking and boiling. Temperature, pH and redox agent have an influence on the stability of anthocyanins. The anthocyanin extract from the leaf, stem, core and shell can inhibit the proliferation of human B lymphoma cell line OCI-LY10 and human acute lymphoblastic monocytic leukemia MV4-11, and the IC₅₀ was 144.2, 82.8, 123.8, 95.6 μg/mL and 58.8, 12.6, 43.0, 49.4 μg/mL.

Key words: Black Rose Fruit Maize; anthocyanin; accumulation feature; stability; biological activity

花青素是一种水溶性植物色素,属于黄酮类,它广泛存在于水果、花朵及紫色谷物中。具有抗脂质过氧化、清除自由基、保护心血管、抗肿瘤、抗衰老等药理作用^[1-4],然而以往有关花青素研究,主要集中在蔬菜水果中,特别是葡萄、蓝莓^[5-8]。

黑玫瑰水果玉米原产于南美洲,其籽粒可供直接食用,因富含花青素,随着人们对健康生活的追求,近年备受消费者追捧。有关黑玫瑰水果玉米花青素研究报道,多集中在提取纯化和稳定性相关研究^[9-11],还未系统的对其积累特性、稳定性及生物活性作研究报道。

本研究以自选黑玫瑰水果玉米品种(黑甜玉8号)为对象,研究发育不同时期(授粉后21、27、33

收稿日期:2019-11-25 接收日期:2020-06-17

基金项目:四川省科技厅项目(18YYJC0083)

* 通信作者 Tel: 86-013096363851; E-mail: janshen1986@163.com; 453010570@qq.com

天)、不同组织部位(叶片、苞叶、茎秆、籽粒、穗轴)中花青素含量;并探讨不同前处理(烘干、冻干、煮熟)、温度、pH 值及氧化还原剂(过氧化氢、硫代硫酸钠)对其籽粒中花青素稳定性的影响;同时,利用四甲基偶氮唑盐比色法,分析花青素提取物对 OCI-LY10 细胞、MV4-11 细胞增殖的抑制影响。研究结果可为黑玫瑰水果玉米的开发研制提供参考依据,为黑玫瑰水果玉米的应用推广奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

黑玫瑰水果玉米(黑甜玉 8 号)(成都农业科技职业学院特种玉米研究所);矢车菊素标准品(成都普思生物科技股份有限公司);人 B 淋巴瘤细胞 OCI-LY10、人急性淋巴髓单核细胞白血病 MV4-11(美国模式菌种收集中心);二甲基亚砜、四甲基偶氮唑盐(Sigm 公司);胎牛血清(草原绿野生物工程有限公司);RPMI1640 培养液(Solarbio 公司);IMDM 培养液(Gibco 公司)。

1.2 仪器与设备

UV-1900 型紫外可见分光光度计(翱艺仪器(上海)有限公司);R-300 型旋转蒸发仪(瑞士 Buchi 公司);SpectraMax iD3 多功能酶标仪(美国 Molecular Devices 公司);DMI300B 型倒置荧光显微镜(德国 Leica 公司);MCV-13161FT 型超净台(日本 Sanyo 公司)。

2 方法

2.1 花青素原液的提取制备^[12]

将筛选好的黑玫瑰水果玉米样品烘干,打粉,用 95% 乙醇与 2 mol/L 的盐酸(比例 1:9)溶解,超声提取,离心取上清液,残渣按上述步骤再提取一次,合并两次离心液,即得花青素原液,备用。

2.2 黑玫瑰水果玉米花青素的含量测定^[13]

精密称定矢车菊素标准品,配制成 0.05 mg/mL 的母液。依次将母液稀释成 0.048、0.040、0.033、0.026、0.018、0.013 mg/mL 的溶液,在 530 nm 波长处进行比色测定,绘制标准曲线,得回归方程: $Y = 14.798X - 0.0352$ ($R^2 = 0.9991$)。将样品的花青素提取液,在 530 nm 波长下进行比色,记录吸光度,带入回归方程计算花青素相对含量。

2.3 黑玫瑰水果玉米花青素的稳定性测定

2.3.1 不同预处理对黑玫瑰水果玉米中花青素稳定性的影响

将黑玫瑰水果玉米的籽粒用烘干、冻干和煮熟

三个不同方法处理。按照“2.1”项下方法,提取花青素原液,备用。

2.3.2 温度对不同预处理黑玫瑰水果玉米中花青素稳定性的影响^[14]

将“2.3.1”项下制备的三种花青素原液,分别量取等量体积于小烧杯中,并置于 50、60、80、90 °C 恒温水浴锅内,处理 2 h 后,冷却至室温。按“2.2”项下方法测定花青素相对含量,观察温度对不同预处理后花青素稳定性的影响。

2.3.3 pH 对不同预处理黑玫瑰水果玉米中花青素稳定性的影响^[15]

将“2.3.1”项下制备的三种花青素原液,分别量取等量体积于小烧杯中,每种提取液分别用 0.1 mol/L HCl 溶液和 0.1 mol/L NaOH 溶液调节 pH 4、7、10,静置 30 min。按“2.2”项下方法测定花青素相对含量,观察 pH 对不同预处理后花青素稳定性的影响。

2.3.4 氧化还原剂对不同预处理黑玫瑰水果玉米中花青素稳定性的影响^[16]

将“2.3.1”项下制备的三种花青素原液,分别量取等量体积于小烧杯中,每种提取液分别用质量浓度为 1.0、2.0、2.5 g/mL 的 H_2O_2 和 $Na_2S_2O_3$ 溶液处理,静置 24 h。按“2.2”项下方法测定花青素相对含量,观察 H_2O_2 和 $Na_2S_2O_3$ 对不同预处理后花青素稳定性的影响。

2.4 黑玫瑰水果玉米花青素的生物活性测定

2.4.1 花青素药液的配制^[17,18]

取黑玫瑰水果玉米的籽粒、叶片、茎秆、穗轴、苞叶部位样品,取中农 413 样品作对照,将样品冻干,打粉,95% 乙醇连续回流提取 3 次,合并提取液,减压回收溶剂,将所得浸膏用正丁醇,重复萃取 2~3 次,合并萃取液,减压回收溶剂,即得青花素提取物。精密称定提取物,用 DMSO 溶液溶解,配制成质量浓度为 232、206、226、246、232、206 mg/mL 的药液。

2.4.2 MTT 法检测细胞活力^[19,20]

细胞的培养:OCI-LY10 细胞培养于含 10% 胎牛血清的 RPMI1640 完全培养液,MV4-11 细胞培养于含 10% 胎牛血清的 IMDM 完全培养液,置 37 °C、5% CO_2 饱和湿度的培养箱中培养。

细胞活力检测:将上述步骤制得的药液用培养液二倍梯度稀释,稀释成六个浓度梯度,加到 96 孔板,每孔 100 μ L,实验设置加药液和细胞的实验组、只加细胞不加药液的阴性组、不加药液不加细胞只加培养液的空白组,每组三个复孔。取对数生长期

的 OCI-LY10 细胞和 MV4-11 细胞,分别以每孔 3×10^4 个/mL 和 4×10^4 个/mL 接种到实验组和阴性组内,每孔 100 μL , 孵育 72 h。每孔再加 MTT(5 mg/mL)溶液 20 μL , 孵育 2 h。最后,每孔加 DMSO 100 μL 终止反应,震荡 10 min,待各孔晶体完全溶解后,利用多功能酶标仪在 570 nm 波长处测定光吸收值 A,记录数据,计算各浓度下细胞的生长抑制率。计算公式为:

$$\text{细胞抑制率} = [1 - (A_{\text{实验组}} - A_{\text{空白组}}) / (A_{\text{阴性组}} - A_{\text{空白组}})] \times 100\%$$

2.5 数据处理

每组试验设计平行 3 次,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 IBM SPSS Statistics 20.0 及 GraphPad Prism 7.0 软件对数据进行统计分析。

3 结果与分析

3.1 黑玫瑰水果玉米花青素的积累特征

不同发育时期黑玫瑰水果玉米中花青素含量分析表明,授粉后 21、27、33 天的玉米壳、梗、籽粒、叶部位花青素含量相近,差异不显著。玉米芯部位花青素含量差异显著,授粉后 21 天的花青素含量较低,为 0.039%。不同发育期的不同组织部位中花青素含量变化趋势相近,可认为玉米籽粒 > 玉米芯 > 玉米叶 > 玉米壳 \approx 玉米梗,且籽粒中花青素含量显著高于其他组织部位,授粉后 21、27、33 天采摘籽粒部位花青素含量分别为 0.058%、0.060%、0.058%。详见图 1。

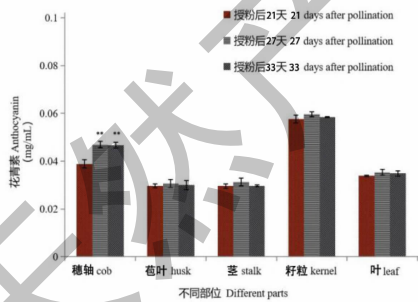


图 1 不同发育期及不同组织部位中花青素含量

Fig. 1 Anthocyanin content at different

developmental stages and different tissue parts

注:与授粉后 21 天组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。Note: Compared with the 21 days group after pollination, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

3.2 黑玫瑰水果玉米花青素的稳定性

3.2.1 不同预处理提取条件(烘干、冻干、煮熟)对花青素含量影响

结果表明,黑玫瑰水果玉米籽粒经冻干处理后

提取的花青素含量最高,烘干处理的次之,煮熟处理的最低,三者有明显差异,且经冻干处理后花青素的整体稳定性高于煮熟和烘干处理,详见图 2~5。

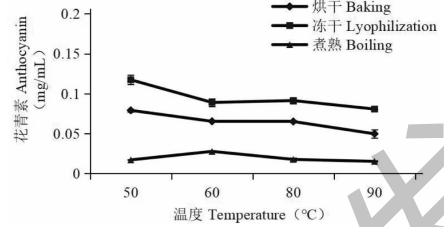


图 2 温度对花青素稳定性的影响

Fig. 2 Effect of temperature on anthocyanin stability

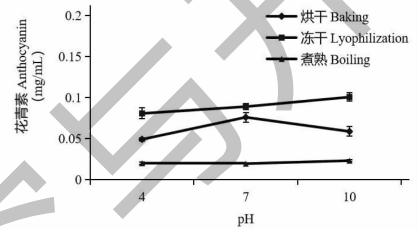


图 3 pH 对花青素稳定性的影响

Fig. 3 Effect of pH on anthocyanin stability

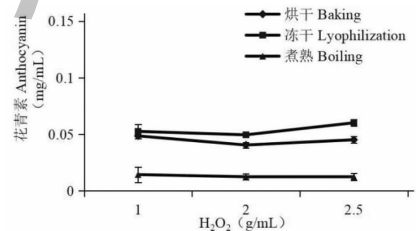


图 4 H₂O₂ 对花青素稳定性的影响

Fig. 4 Effect of H₂O₂ on anthocyanin stability

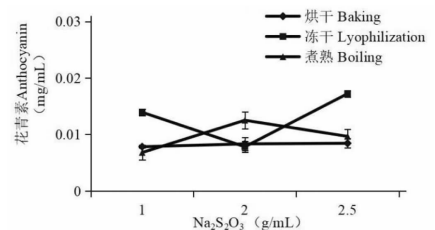


图 5 Na₂S₂O₃ 对花青素稳定性的影响

Fig. 5 Effects of Na₂S₂O₃ on anthocyanins stability

3.2.2 温度对黑玫瑰水果玉米中花青素稳定性的影响

由图 2 可知,不同温度对籽粒中花青素的稳定性有明显影响。随温度升高,花青素稳定性下降,且含量降低。当温度高于 50 $^{\circ}\text{C}$ 时,经烘干、冻干预处理后提取的花青素含量降低幅度明显,分别从

0.080%、0.120% 降至 0.065%、0.089%，当温度高于 60℃ 时，经煮熟预处理后提取的花青素含量从 0.028% 降至 0.018%。虽然花青素具有一定的耐热性，但在制备储存过程中，温度不宜过高，以免破坏其稳定性。

3.2.3 pH 对黑玫瑰水果玉米中花青素稳定性的影响

由图 3 可知，不同 pH 对籽粒中花青素的稳定性有一定影响。随 pH 升高，经冻干预处理后提取的花青素含量逐渐提高，经烘干预处理的含量先升高后降低，经煮熟预处理的含量基本保持不变，故为保持花青素稳定性，溶液应在 pH4~10，即弱酸弱碱状态下。

3.2.4 氧化还原剂对黑玫瑰水果玉米中花青素稳定性的影响

由图 4、5 可知，不同质量浓度的 H_2O_2 对籽粒中花青素的稳定性有一定程度的影响。经冻干预处理后提取的花青素稳定性最好，含量最高，在 0.050%~0.060% 内，经烘干预处理的次之，经煮熟预处理的稳定性最差，含量最低，在 0.012%~0.014% 内。不同质量浓度的 $Na_2S_2O_3$ 对籽粒中花青素的稳定性有巨大影响，可明显降低其含量。故在使用过程中避免接触氧化还原剂，以防花青素的降解和稳定性的破坏。

3.3 黑玫瑰水果玉米花青素的生物活性

通过对 OCI-LY10 细胞的抑制活性检测发现，中农玉米的花青素提取物无明显细胞增殖抑制作用，而黑玫瑰水果玉米的叶片、茎秆、穗轴、苞叶部位能明显抑制 OCI-LY10 细胞的生长， IC_{50} 分别为 144.2、82.8、123.8、95.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，其抑制作用呈剂量依赖性，其中梗部位花青素提取物对 OCI-LY10 细胞作用最强，在浓度为 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时，对 OCI-LY10 细胞仍有 20% 的抑制率，详见表 1、2。

通过对 MV4-11 细胞的抑制活性检测发现，黑玫瑰水果玉米的叶片、茎秆、穗轴、苞叶部位花青素提取物能不同程度的抑制 MV4-11 细胞的增殖， IC_{50} 分别为 58.8、12.6、43.0、49.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，其抑制作用呈剂量依赖性，经比较发现，梗部位对 MV4-11 细胞增殖抑制作用最强，在 6.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的剂量下仍有 31% 的抑制率，详见表 1、3。

4 结论

黑玫瑰水果玉米在授粉后 27、33 天花青素含量相近，且高于授粉后 21 天，在不同组织部位中花青素含量由高到低依次为：玉米籽粒 > 玉米穗轴 > 玉米叶片 > 玉米苞叶 \approx 玉米茎秆，故本实验选用黑玫瑰水果玉米籽粒作为花青素稳定性实验的样品。生活中玉米叶片、苞叶、茎秆等部位常被做成饲料或丢弃，今后应综合开发利用资源，变废为宝，提高生物

表 1 黑玫瑰水果玉米花青素提取物对 OCI-LY10 和 MV4-11 细胞的 IC_{50}

Table 1 IC_{50} of anthocyanin extract of Black Rose Fruit Maize on OCI-LY10 and MV4-11 cells ($\mu\text{g}/\text{mL}$)

细胞株 Cell line	名称 Name	玉米叶片 Maize leaf	玉米茎秆 Maize stalk	玉米穗轴 Maize cob	玉米苞叶 Maize husk
LY10	人肝癌细胞	144.2	82.8	123.8	95.6
MV4-11	人急性淋巴细胞白血病	58.8	12.6	43.0	49.4

表 2 黑玫瑰水果玉米花青素提取物对 OCI-LY10 细胞的抑制率 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 2 Inhibitory effect of anthocyanin extract of Black Rose Fruit Maize on OCI-LY10 cells ($\bar{x} \pm s, n=3$)

药液浓度 Liquid concentration ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	抑制率 Inhibition rate (%)			
	玉米叶片 Maize leaf	玉米茎秆 Maize stalk	玉米穗轴 Maize cob	玉米苞叶 Maize husk
200	66.41 \pm 1.67	77.48 \pm 2.78	66.45 \pm 3.13	72.71 \pm 3.13
100	21.57 \pm 4.48	62.21 \pm 4.42	44.59 \pm 5.33	54.46 \pm 4.69
50	11.76 \pm 5.10	20.24 \pm 6.38	18.97 \pm 5.82	14.33 \pm 6.01
25	5.24 \pm 5.62	11.89 \pm 6.03	12.3 \pm 5.26	12.04 \pm 6.26
12.5	2.53 \pm 3.39	8.01 \pm 4.71	12.25 \pm 2.01	8.67 \pm 4.39
6.3	1.39 \pm 1.90	2.32 \pm 2.18	3.12 \pm 2.08	4.69 \pm 2.76

表3 黑玫瑰水果玉米花青素提取物对 MV4-11 细胞的抑制率($\bar{x} \pm s, n = 3$)Table 3 Inhibitory effect of anthocyanin extract of Black Rose Fruit Maize on MV4-11 cells($\bar{x} \pm s, n = 3$)

药液浓度 Liquid concentration ($\mu\text{g/mL}$)	抑制率 Inhibition rate (%)			
	玉米叶片 Maize leaf	玉米茎秆 Maize stalk	玉米穗轴 Maize cob	玉米苞叶 Maize husk
200	78.65 \pm 2.56	82.39 \pm 2.38	80.60 \pm 2.79	78.82 \pm 2.55
100	66.01 \pm 4.91	81.21 \pm 2.53	77.10 \pm 3.96	76.76 \pm 3.88
50	40.33 \pm 5.85	80.58 \pm 2.56	60.67 \pm 4.52	50.70 \pm 4.85
25	16.75 \pm 6.10	71.59 \pm 3.64	29.67 \pm 6.32	19.56 \pm 6.74
12.5	14.11 \pm 4.70	53.56 \pm 5.75	15.56 \pm 3.35	12.12 \pm 6.87
6.3	4.63 \pm 3.65	31.22 \pm 3.08	8.27 \pm 1.09	2.51 \pm 2.32

利用度。

经冻干预处理后提取的花青素稳定性优于烘干和煮熟处理,且含量最高,故冻干处理用于 MTT 活力检测中花青素提取;高温,强酸强碱,氧化还原剂对花青素的稳定性有较大影响,且实验结果与研究报道结果类似^[14,16,21-23]。因此,在健康角度讲,高温蒸煮会破坏花青素稳定性,为保留花青素含量,可生吃玉米或冷冻减压干燥成玉米干后食用,故发展鲜食玉米潜力巨大。

研究还发现黑玫瑰水果玉米叶片、茎秆、穗轴、苞叶部位花青素提取物对 OCI-LY10 和 MV4-11 细胞增殖有抑制作用,且效果较好。说明黑玫瑰水果玉米中花青素提取物有作为抗癌药物治疗的潜力,但其抑制细胞增殖的机理并不十分完善,还有待进一步研究。

参考文献

- 1 Sarma AD, Sreelakshmi Y, Sharma R. Antioxidant ability of anthocyanins against ascorbic acid oxidation[J]. *Phytochemistry*, 1997, 45: 671-674.
- 2 Li J, Kang MK, Kim Jk, et al. Purple corn anthocyanins retard diabetes-associated glomerulosclerosis in mesangial cells and db/db mice[J]. *Europ J Nut*, 2012, 51: 961-973.
- 3 Hou R, Chen Q, Wang L, et al. The research progress of anthocyanins and its biological activities[J]. *Prog Mod Biomed (现代生物医学进展)*, 2015, 15: 5590-5593.
- 4 Li JR, Li HY, Yu K, et al. Effect and mechanism of purple sweet potato anthocyanins on liver cancer[J]. *Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发)*, 2018, 30: 41-44.
- 5 Xu MC, Li SG, Ding YS, et al. Protective mechanism of grape seed proanthocyanidin extract against oxidative damage induced by arsenic in HL-7702 cells[J]. *Food Sci(食品科*

学), 2018, 39(3): 176-181.

- 6 Mao X, Zhang YZ, Liu YM. Study on extraction technology and antioxidant activities of proanthocyanidins from grape branches and tendrils[J]. *Storage Process(保鲜与加工)*, 2018, 18(1): 82-89.
- 7 Yao JN, Li ZJ. Research progress in blueberry anthocyanin in eye diseases[J]. *Int Eye Sci(国际眼科杂志)*, 2016, 16: 2234-2236.
- 8 Ye HL, Yao J, Liu D, et al. Ultrasonic extraction technology and composition analysis of anthocyanins from blueberry pomace[J]. *Food Res Dev(食品研究与开发)*, 2019, 40(10): 113-116.
- 9 Wang YB, Zhang C, Ma Y, et al. Effects of organic acids on thermal stability of anthocyanins from purple corn[J]. *Food Sci(食品科学)*, 2010, 31(7): 164-167.
- 10 Xiao LX, Wang F, Zhang C, et al. Effect of extractants on the anthocyanin extraction from purple corn[J]. *Innov Ed Farm Prod Process(农产品加工: 创新版)*, 2009(6): 38-40.
- 11 Zhu M, Shi ZS, Li FH, et al. Optimization of extraction technique of purple corn cob anthocyanins by orthogonal experiment design[J]. *Food Res Dev(食品研究与开发)*, 2012, 33(2): 122-125.
- 12 Zhang Z, Tao P, Wang L. Optimization of technical parameters of ultrasonic-assisted extraction of Black glutinous corn-cob pigment[J]. *Pack Food Mach(包装与食品机械)*, 2006, 24(3): 24-28.
- 13 Chen HG, Zhou J, Zhou X. Optimization extraction of anthocyanins from red plummy response surface methodology[J]. *J Guizhou Norm Univ; Nat Aci(贵州师范大学学报· 自然科学版)*, 2018, 36(3): 27-32.
- 14 Liu Y, Guo YF, Li XL, et al. Determination and stability analysis of anthocyanin in three fruit Peels[J]. *Storage Process(保鲜与加工)*, 2017, 17(4): 89-93.
- 15 Li M. Study on composition analysis stability and oxidation

- resistance of different anthocyanins[D]. Nanjing: Nanjing University of Finance and Economics(南京财经大学), 2013.
- 16 Zhou BL, Zhang Q, Ye XL, et al. Different cultivars of eggplants: a comparative study of anthocyanidin content and stability in fruit skin[J]. Food Sci(食品科学), 2011, 32(1): 99-103.
 - 17 Zhang DX. Experimental study of the pigment extraction conditions contrast, stability and application of *Lonicera edulis* [D]. Beijing: Innovational Edition of Farm Products Processing(中国农业科学院), 2012.
 - 18 Chen ZL, Wang QH, Kuang HX. Determination content *Lonicera caerulea* var. *edulis* anthocyanins and polyphenols in different parts and *in vitro* antioxidant activity[J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2016, 22(1): 48-52.
 - 19 Tian Y, Yin ZQ, Tang Q. Water extraction process of anthocyanins from "Ziyan" tea and the antitumor activity of its extracts[J]. J Anhui Agr Univ(安徽农业大学学报), 2019, 46(1): 7-13.
 - 20 Yang YT, He BX, He YL, et al. Patchouli alcohol induces apoptosis of MV4-11 leukemia cells by PKM2 and NF- κ B[J]. Chine J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2016, 22(6): 99-103.
 - 21 Lou WJ, Kong J. Study on extraction and stability of purple potato anthocyanins[J]. J Sichuan Tourism Univ(四川旅游学院学报), 2017(2): 20-22.
 - 22 Zeng L, Han CY, Zhao ZG, et al. Stability of anthocyanin extracted from Black Rice of different methods[J]. Food Ind(食品工业), 2018, 39(8): 12-16.
 - 23 Chen SS, Suo YR, Bai B, et al. Evaluation of the stability of anthocyanins in *Lycium ruthenicum* Murr. from Qinghai-tibet Plateau[J]. Nat Prod Res. Dev(天然产物研究与开发), 2017, 29: 144-150.

(上接第 124 页)

- 5 Fang F, Wang FZ. Research progress on key genes of flavonol biosynthesis in plants[J]. Sci Technol Food Ind(食品工业科技), 2018, 39(14): 335-340.
- 6 Chen M, An C, Yang CZ, et al. Quality evaluation of Fructus seu Semen *Euscaphis japonicae* based on character description and content of astragaloside[J]. Strait Pharm J(海峡药学), 2019, 31(3): 34-37.
- 7 Zhang RH, Song Z, Fu WD, et al. Migration and degradation of astragaloside in the suitable soil for *Flaveria bidentis* [J]. Ecolo Environ Sci(生态环境学报), 2016, 25: 1644-1652.
- 8 Yang HW, Zhu PP, Zhang CF, et al. Influence of astragaloside on proliferation and differentiation of mice's osteoblast MC3T3-E1[J]. Acta Chin Med Pharm(中医学报), 2013, 41(4): 17-19.
- 9 Song L, Fu Q. Study of the effect of astragaloside on proliferation of ovarian cancer cells by inhibiting the glycolytic pathway induced via HIF-1 α [J]. Prac Oncol J(实用肿瘤学杂志), 2018, 32: 503-509.
- 10 Ji XH. Study on extraction of astragaloside from lotus leaves and antimicrobial activities[J]. Food Ind(食品工业), 2014, 35(10): 112-114.
- 11 Yang HY, Liu Y, Li MW, et al. Simultaneous determination of isoquercitrin, astragaloside and salvianolic acid B in *Moringa oleifera* leaves granules by HPLC[J]. Chin Pharm(中国药房), 2019, 30: 1164-1167.
- 12 Deng YF, Zhai XJ. Simultaneous determination of astragaloside and kaempferol in bairui granule by HPLC-MS/MS[J]. Chin Pharm(中国药师), 2018, 21: 524-526.
- 13 Di X, Gu LY, Wang HB, et al. Simultaneous determination of chlorogenic acid, rutin, isoquercetin, astragaloside and quercetin in Mori Folium by HPLC[J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2014, 20(15): 92-95.