

DOI: 10.11931/guhaia.gxzw201405031

沈薇,石晓峰,宁红霞,等.雪松不同部位中原花青素的含量测定及其清除DPPH自由基的活性[J].广西植物,2015,35(6):930—934
 Shen W, Shi XF, Ning HX, et al. Determination of proanthocyanidins and DPPH radical scavenging activity of different parts from *Cedrus deodara* [J]. Guihaia, 2015, 35(6):930—934

雪松不同部位中原花青素的含量测定 及其清除DPPH自由基的活性

沈 薇¹, 石晓峰^{1*}, 宁红霞², 胡彩香¹

(1. 甘肃省医学科学研究院, 兰州 730050; 2. 甘肃中医学院, 兰州 730000)

摘要: 雪松(*Cedrus deodara*)是松科(Pinaceae)雪松属(*Cedrus*)树种的泛称,为广泛分布于喜马拉雅山脉的常绿树种,包括雪松(*C. deodara*)、黎巴嫩雪松(*C. libani*)、短叶雪松(*C. brevifolia*)和北非雪松(*C. atlantica*)等。雪松的针叶药用历史悠久,主要化学成分为黄酮类、苯丙素类、有机酸类、三萜类、甾体类、多糖及针叶胶等,具有抗肿瘤、抗氧化、改善记忆、抗菌及抗病毒等多种功效。为了测定雪松不同部位中原花青素的含量,并考察其清除DPPH自由基活性的能力,该研究以Fe³⁺离子为催化剂,用正丁醇—盐酸法分别测定雪松松针、花序、小枝、木质部、树皮中原花青素的含量,并对不同部位提取液清除DPPH自由基的能力进行测定。结果表明:松针、花序、木质部、树皮、小枝中原花青素的含量分别为12.93%、12.93%、6.41%、12.00%、3.37%,在质量浓度(以生药计)为0.8 mg·mL⁻¹时,其对DPPH自由基的清除率均达到或接近90%。该研究结果提示雪松各个部位的原花青素含量丰富,其提取液的体外抗氧化活性很高,这为雪松的进一步开发利用提供了很好的参考价值。

关键词: 雪松; 原花青素; 含量测定; 紫外—可见分光光度法; DPPH自由基

中图分类号: R931.6, Q946 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2015)06-0930-05

Determination of proanthocyanidins and DPPH radical scavenging activity of different parts from *Cedrus deodara*

SHEN Wei¹, SHI Xiao-Feng^{1*}, NING Hong-Xia², HU Cai-Xiang¹

(1. Gansu Academy of Medical Science, Lanzhou 730050, China; 2. Gansu College of TCM, Lanzhou 730000, China)

Abstract: *Cedrus deodara* (Pinaceae family), which consists of *C. deodara*, *C. libani*, *C. brevifolia* and *C. atlantica*, is an evergreen tree growing extensively on the slopes of the Himalayas. Its leaves was a kind of chinese medicine for a long history. Its main chemical constituents include flavonoids, phenylpropanoids, organicacid, triterpenes, steroids, polysaccharides leaf glue and so on. The major pharmacological activities of pine needles of *C. deodara* include antitumor, antioxidation, improving memory, antibacterial and antivirus, ect. In order to determine proanthocyanidin content and DPPH radical scavenging activity of different parts from *C. deodara*. In this study, Fe³⁺ ion was used for catalyst, n-BuOH : HCl (95 : 5) was chromogenic agent and the detection wave-lengths were at 550 nm. And the content of proanthocyanidin was determined in different parts from *C. deodara* by ultraviolet-visible spectrophotometer. And antioxidant activity of extract from different parts of *C. deodara* were investigated by scavenging

收稿日期: 2014-09-21 修回日期: 2014-12-01

基金项目: 甘肃省普通中医药科研项目(GZK-2012-29); 甘肃省科技支撑计划项目(1204FKCA152)。

作者简介: 沈薇(1977-),女,甘肃省酒泉市人,副研究员,研究方向为中药化学及中药质量标准,(E-mail)shenwei_0124@sina.com。

*通讯作者: 石晓峰,主任药师,教授,硕士生导师,研究方向为天然药物化学,(E-mail)shixiaofeng2005@sina.com。

1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl free radical (DPPH). The results showed that proanthocyanidins content in different parts of *C. deodara* was pine needles(12.93%), inflorescence (12.93%), bark(12.00%), wood (6.41%), tender branchlets(3.37%). The extract from different parts of *C. deodara* had good antioxidant activity. In a certain concentration scope, there was a strong positive correlation between the scavenging activity and the concentrations. The order of IC_{50} was tender branchlets > pine needles > wood > bark > inflorescence. Except for branchlets, their DPPH scavenging activities were around 90% while the concentration of the extract from different parts was 0.8 mg · mL⁻¹. The results indicated that there were higher proanthocyanidins content and antioxidant activities in different parts of *C. deodara*, which provide the reference on comprehensive development and utilization of *C. deodara*.

Key words: *Cedrus deodara*; proanthocyanidin; content determination; ultraviolet-visible spectrophotometer; DPPH free radical

原花青素(proanthocyanidin, PC)是由儿茶素、表儿茶素及表儿茶素没食子酸酯通过 C₄ ~ C₆ 或 C₄ ~ C₈ 连接而成的不同聚合度的一大类多酚类化合物的总称(官清等,2012)。其水溶性好,生物利用度在 90%以上,是目前发现的最强效抗氧化剂和自由基清除剂,在体内抗氧化能力是 VE 的 50 倍、VC 的 20 倍,同时具有较强的抗癌和保护心血管等功能(张妍等,2011)。在葡萄籽、松树皮、废弃油菜籽皮、荔枝皮、蚕豆皮、沙棘籽粕、高粱种皮、黑豆等中含量均较丰富(张小军等,2009)。

雪松(*Cedrus deodara*)是松科(Pianaceae)雪松属(*Cedrus*)树种的泛称,又名喜马拉雅雪松、喜马拉雅杉、香柏。该属共 4 种,包括雪松(*C. deodara*)、黎巴嫩雪松(*C. libani*)、短叶雪松(*C. brevifolia*)和北非雪松(*C. atlantica*),具有解痉、镇痛、抗炎、抗癌、抗菌、抗病毒等多种药理活性(张军民等,2009)。为开发利用雪松,采用紫外—可见分光光度法测定了雪松不同部位(松针、花序、小枝、木质部、树皮)中原花青素的含量;并利用 DPPH 自由基清除率来评价雪松各部位的抗氧化能力,为雪松的多方位开发利用提供了科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

雪松松针、花序、小枝、木质部、树皮,于 2012 年 5 月采自兰州市市区,原植物标本经甘肃省医学研究院何福江研究员鉴定为雪松属植物雪松(*Cedrus deodara*)。

原花青素对照品(经测定其纯度>95%)由成都曼斯特生物技术有限公司提供;1,1-二苯基-2-苦肼基自由基(1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical, DPPH)由 Sigma 公司提供,分析纯抗坏血酸

(Vitamin C, VC)由国药集团化学试剂有限公司提供,其余试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

UV-240 紫外-可见分光光度计(日本岛津公司);AE 260 型万分之一电子天平(瑞士 Mettle 公司);CP 225 型十万之一电子天平(德国赛多利斯公司);B3200S-T 超声波清洗仪(必能信超声上海有限公司),快速开盖万能高速粉碎机(上海市晟喜制药机械有限公司),QL-901 旋涡混合器(海门市麒麟医药仪器厂)。

1.3 实验方法

1.3.1 雪松不同部位中原花青素含量测定

1.3.1.1 对照品溶液和供试品溶液的制备 精密称取原花青素对照品 12.5 mg,置于 25 mL 容量瓶中,用 95%乙醇溶解并定容至刻度,摇匀,即得浓度为 0.5 mg · mL⁻¹ 的原花青素对照品储备液。

精密称取雪松松针粉末(20~40 目筛)1 g,加入 40 倍体积的 80%乙醇,超声提取 1 h,过滤,用少量 80%乙醇冲洗滤渣,合并滤液和冲洗液,定容至 50 mL 容量瓶中,摇匀,然后精密吸取 5 mL,置 50 mL 容量瓶中,用 80%乙醇定容至刻度,即得雪松松针供试品溶液。

1.3.1.2 标准曲线的绘制 分别精密吸取原花青素对照品储备液 0.25、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 mL 于 10 mL 容量瓶中,用 95%乙醇溶液定容至刻度,制成系列浓度的原花青素对照品溶液。精密吸取对照品溶液 1 mL 至 25 mL 比色管中,依次加入正丁醇-盐酸溶液 6 mL、2%盐酸硫酸铁铵溶液(NH₄ Fe(SO₄)₂ · 12H₂O 2 g,加入 2 mol/L 盐酸溶液 100 mL 溶解即得)0.2 mL,塞紧塞子,用旋涡混合器混匀;置沸水浴中加热 40 min 后,立即取出,用冰水浴冷却 5 min,室温放置 15 min 后,分别测定吸光值。以含量(X, μg)为横坐标,吸光值(A)为纵坐标,绘

表 1 回收率考察结果
Table 1 Investigation results of recovery rate

试验 编号 No.	样品含量 Content of sample (μg)	加入量 Added content (μg)	测得量 Detected content (μg)	回收率 Recovery (%)	平均回收率 Average recovery (%)	RSD (%)	平均回收率 Average recovery (%)	RSD (%)
1	129.3	100	100.24	100.24				
2	129.3	100	102.40	102.40	101.41	1.08		
3	129.3	100	101.59	101.59				
4	129.3	130	138.35	106.42				
5	129.3	130	135.38	104.14	105.24	1.09	103.5	1.86
6	129.3	130	136.73	105.17				
7	129.3	160	164.56	102.85				
8	129.3	160	165.92	103.70	102.8	0.91		
9	129.3	160	162.94	101.84				

制标准曲线,得到原花青素的线性回归方程为 $A = 0.003X + 0.011, R^2 = 0.997$,表明原花青素在 25~300 μg 含量范围内与吸光值呈良好线性关系。

1.3.1.3 精密度试验 精密吸取浓度为 0.1 mg · mL⁻¹ 的原花青素对照品溶液 1.0 mL,按“1.3.1.2”项下方法操作,重复测定 6 次,测得吸光值分别为 0.391、0.390、0.390、0.392、0.390、0.391, RSD 为 0.21%,表明该仪器的精密度良好。

1.3.1.4 稳定性试验 精密吸取雪松松针供试品溶液 1.0 mL,按“1.3.1.2”项下方法操作,于 0、5、10、15、20 min 测定,测得吸光值分别为 0.746、0.743、0.749、0.746、0.744, RSD 为 0.3%,表明供试品溶液在反应完毕放置室温后 20 min 内稳定。

1.3.1.5 重复性试验 精密称定雪松松针粉末 6 份,每份 1 g,先按“1.3.1.1”项下的方法操作制备供试品溶液,然后精密吸取以上供试品溶液各 1.0 mL,按“1.3.1.2”项下的方法操作,测定吸光值,并计算含量,结果原花青素的平均含量为 129.3 mg · g⁻¹, RSD 为 3.04%,表明本方法重复性良好。

1.3.1.6 加样回收率试验 精密吸取雪松松针供试品溶液 0.5 mL,共 9 份,按样品含量的 80%、100%、120% 分别加入原花青素对照品溶液 (0.5 mg · mL⁻¹) 0.20、0.26、0.32 mL,依“1.3.1.2”项下的方法测定吸光值,并计算平均回收率和 RSD 值。结果原花青素的平均回收率为 103.5%, RSD 为 1.86%。

1.3.1.7 雪松不同部位中原花青素含量测定 精密称取雪松的松针、花序、木质部、树皮、小枝各 1 g,按“1.3.1.1”项下的方法操作制备供试品溶液,然后精密吸取以上供试品溶液各 1.0 mL,按“1.3.1.2”项下的方法操作,测定吸光值,并计算含量。

1.3.2 雪松不同部位提取液对 DPPH 自由基的清除活性测定 采用贾冬英等(2007)的方法,准确移取雪松不同部位制备的供试品溶液配制成不同浓度的溶液,然后分别精密吸取上述溶液 1 mL 及 VC 对照品溶液 1 mL 于 10 mL 比色管中,分别加入 2 mL DPPH 自由基溶液(浓度为 80 mg · L⁻¹ 的乙醇溶液),用 80% 乙醇定容至 5 mL,充分混匀,室温避光反应 30 min 后,采用分光光度计在 517 nm 下测定其吸光值 A_1 (以体积分数 80% 乙醇溶液为参比);同时吸取 2 mL DPPH 自由基溶液,80% 乙醇定容至 5 mL,同法操作测定吸光值 A_0 ,平行测定 3 次,取其平均值后根据以下公式计算清除率。

$$\text{清除率}(\%) = (A_0 - A_1) \times 100 / A_0$$

以雪松不同部位提取液对 DPPH 自由基清除率为纵坐标(Y),雪松不同部位提取液的质量浓度为横坐标(X, mg · mL⁻¹),建立线性回归方程,计算其清除自由基 50% 的质量浓度(IC₅₀ 值)。

2 结果与分析

2.1 雪松不同部位中原花青素含量

按照本试验方法测定雪松不同部位中原花青素含量结果见表 2。由表 2 可知,雪松不同部位中均含有原花青素,其含量分别为松针(12.93%)、花序(12.93%)、树皮(12.00%)、木质部(6.41%)、小枝(3.37%),均可作为原花青素的资源开发利用。

2.2 雪松不同部位提取液对 DPPH 自由基的清除活性

2.2.1 雪松不同部位提取液对 DPPH 自由基的清除率 DPPH 是一种稳定的自由基,其乙醇溶液呈紫色。当 DPPH 自由基溶液中加入自由基清除剂时,

表 2 雪松不同部位中原花青素的含量测定结果

Table 2 Content of proanthocyanidin from different parts of *Cedrus deodara*

序号 No.	原花青素含量 (%) Content of proanthocyanidin				
	松针 Pine needles	花序 Inflorescence	木质部 Bark	树皮 Wood	小枝 Tender branchlets
1	13.04	12.88	6.36	12.06	3.29
2	12.90	13.01	6.40	11.94	3.41
3	12.86	12.91	6.47	12.01	3.40
平均含量 (%) Average content	12.93	12.93	6.41	12.00	3.37

在最大吸收波长 517 nm 处测得的吸光度降低, 下降幅度与自由基的清除率呈线性关系。因此, 可以通过检测自由基的清除率来评价活性物质的抗氧化能力。

雪松不同部位提取液对 DPPH 自由基的清除率见图 1。图 1 显示, 雪松不同部位原花青素提取液均具有清除 DPPH 自由基的能力, 且随着提取液浓度的增加, 其对 DPPH 自由基的清除能力逐渐增强, 说明雪松不同部位提取液对 DPPH 自由基的清除能力与其浓度存在明显的剂量-效应关系。除小枝外, 花序、树皮、木质部、松针提取液对 DPPH 自由基的清除率在生药质量浓度(以生药计)为 0.1 mg · mL⁻¹ 时都在 15% 以上; 当质量浓度(以生药计)达到 0.8 mg · mL⁻¹ 时, 都接近或者超过 90%, 说明雪松花序、树皮、木质部、松针均具有非常好的抗氧化活性。

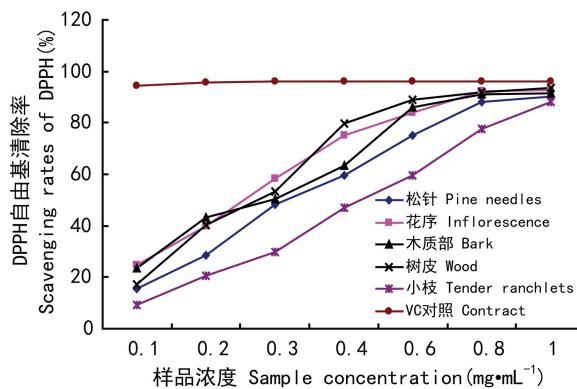


图 1 雪松不同部位提取液对 DPPH 自由基的清除能力

Fig. 1 DPPH Free radical scavenging activity of extract from different parts of *Cedrus deodara*

2.2.2 雪松不同部位提取液对 DPPH 自由基的半数清除浓度(IC_{50}) 半数清除浓度(IC_{50}) 被普遍采用作为评价抗氧化剂能力强弱的指标, IC_{50} 值越小, 其

自由基清除活力越大。本试验以抗坏血酸(VC)为对照药品, 以清除率为纵坐标, 质量浓度为横坐标, 建立的线性回归方程和计算得到的 IC_{50} 值见表 3。由表 3 可知, 雪松不同部位提取液均具有良好的抗氧化活性, 其抗氧化活性强弱依次为花序>树皮>木质部>松针>小枝; 雪松花序、木质部、树皮的 IC_{50} 值与李丹等(2010)测得的葡萄汁清除 DPPH 自由基的 IC_{50} 值(0.3 mg · mL⁻¹)接近, 其中花序的 IC_{50} 值为 0.258 mg · mL⁻¹, 是各部位中的最小值, 但仍只达到对照药品抗坏血酸(VC)的 1/20, 究其原因是本试验所有质量浓度均以生药计, 而对照药品抗坏血酸(VC)纯度大于 99%。

表 3 雪松不同部位提取液清除 DPPH 自由基的 IC_{50} 值Table 3 IC_{50} on DPPH scavenging activity of extract from different parts of *Cedrus deodara*

部位 Part	回归方程 Equation	R ²	IC_{50}
松针 Pine needles	$Y = 15t + 1.53X + 0.1638$	0.989	0.329
花序 Inflorescence	$Y = 161.17X + 8.4086$	0.997	0.258
木质部 Bark	$Y = 126.36X + 13.651$	0.965	0.289
树皮 Wood	$Y = 200.85X - 2.6596$	0.984	0.262
小枝 Tender branchlets	$Y = 103.41X + 0.1219$	0.974	0.482
VC 对照 Contract	$Y = 3580X - 0.775$	0.993	0.014

3 讨论与结论

本文以正丁醇和盐酸为反应介质, Fe^{3+} 金属离子为催化剂, 在加热条件下, 使原花青素水解形成在 550 nm 处有最大吸收峰的红色花青素, 用分光光度法测定了雪松不同部位原花青素的含量, 所建立的方法重复性好、精密度高, 平均回收率为 103.5%, RSD 为 1.86%, 操作较为简便, 结果可靠, 可以作为原花青素含量的测定方法。

为提高原花青素的提取率, 笔者分别选用 30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100% 乙醇, 作为提取溶剂, 显色后测定吸光值, 实验结果表明, 80% 的乙醇水溶液对雪松中原花青素的提取效果最好。

雪松不同部位中均含有原花青素, 其含量分别为松针(12.93%)、花序(12.93%)、树皮(12.00%)、木质部(6.41%)、小枝(3.37%); 雪松不同部位提取

液对DPPH自由基的清除能力与其浓度存在明显的剂量—效应关系,半数清除浓度(IC_{50})的顺序依次为小枝>松针>木质部>树皮>花序;当雪松花序、树皮、木质部、松针质量浓度达到 $0.8\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,其对DPPH自由基的清除率都接近或者超过90%。雪松不同部位抗氧化活性的顺序与其原花青素的含量大小不一致,也说明其抗氧化作用由多种物质参与。

参考文献:

- Cui XX(崔晓霞),Zhang XL(张小丽),Luo SQ(罗书勤). 2012. Extracting process of proanthocyanidins from pinus koraiensis bark(落叶松树皮原花青素提取工艺的研究)[J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发),**24**(S1):127—130
Guan Q(官清),Zang H(张珩),Shi XL(石晓琳). 2012. Research progress of pharmaceutical proanthocyanidin(原花青素药用研究进展)[J]. *Chin J Clin Rat Drug Use*(临床合理用药),**5**(2A):174—175

(上接第781页 Continue from page 781)

- water use efficiency of vegetable amaranth(*Amaranthus* spp.) in response to drought stress[J]. *Sci Hortic*,**102**(1): 15—27
Merlo L,Passera C. 1991. Changes in carbohydrate and enzyme levels during development of leaves of *Prunus persica*, a sorbitol synthesizing species[J]. *Physiol Plant*,**83**:621—626
Miron D,Schaffer AA. 1991. Sucrose phosphate synthase, sucrose synthase, and acid invertase activities in developing tomato fruit of *Lycopersicon esculentum* Mill and the sucrose accumulating *L. hirsutum* Humb. and Bonpl. [J]. *Plant Physiol*,**95**: 623—627
Paez A,Gebre GM,Gonzalez ME,*et al.* 2000. Growth, soluble carbohydrates, and aloin concentration of *Aloe vera* plants exposed to three irradiance levels [J]. *Environm Exp Bot*,**44**(2): 133—139
Qi X(齐欣),Cao KF(曹坤芳),Feng YL(冯玉龙). 2004. Photosynthetic acclimation to different growth light environments in seedlings of three tropical rainforest *Syzygium* species(热带雨林蒲桃属3个树种的幼苗光合作用对生长光强的适应)[J]. *Acta Phytoecol Sin*(植物生态学报),**28**(1): 31—38
Souza A,Paula AD,Figueiredo-Ribeiro RC. 2004. Effects of irradiance on non-structural carbohydrates, growth, and hypoglycemic activity of *Rhynchoselytrum repens* (Willd.) C. E. Hubb. (Poaceae) [J]. *Braz J Biol*,**64**(3B): 697—706
Wang BW(王博文),Wang Y(王洋),Yan XF(阎秀峰). 2006. Effect of light intensity on camptothecin content and a llocation in *Camptotheca acuminata* seedlings(光强对喜树幼苗喜树碱含量及分配的影响)[J]. *J Nat Sci Heilongjiang Univ*(黑龙江大学自然科学学报),**23**(2): 260—264
Wang Y(王洋),Dai SJ(戴绍军),Yan XF(阎秀峰). 2004. Effects of light intensity on secondary metabolite camptothecin

- Jia DY(贾冬英),Cao DD(曹冬冬),Yao K(姚开). 2007. DPPH radical scavenging activity of eleocharis tuberosa peel extract(荸荠皮提取物对DPPH自由基清除活性)[J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发),**19**(5): 745—747
Li D(李丹),Tian Y(田莹). 2010. Study on antioxidation action of grape juice(葡萄汁抗氧化作用的研究)[J]. *J Anhui Agric Sci*(安徽农业科学),**38**(3): 1 429—1 431
Liu Y(刘晔),Luo SQ(罗书勤),Wang BC(王博超),*et al.* 2011. Study on extraction technique of larch bark proanthocyanidins using ultrasonic wave(超声辅助提取落叶松树皮原花青素的工艺研究)[J]. *Mod Chem Ind*(现代化工),**31**(1):250—252
Zhang JM(张军民),Shi XF(石晓峰),Fan B(范彬). 2009. Chemical constituents and pharmacological activities from pine needles of cedrus trew(雪松的化学成分及药理活性研究进展)[J]. *Chin Trad Pat Med*(中成药),**31**(6): 928
Zhang XJ(张小军),Xia CT(夏春铿),Wu JM(吴建铭),*et al.* 2009. Resource studies of proanthocyanidins(原花青素的资源研究)[J]. *Chin Med Mat*(中药材),**32**(6):1 154—1 158
Zhang Y(张妍),Wu XX(吴秀香). 2011. Advances in research of the proanthocyanidin(原花青素研究进展)[J]. *Chin Mat Med Pharm Clin*(中医药理与临床),**27**(6):112—115
- production in leaves of *Camptotheca acuminata* seedlings(光强对喜树幼苗叶片次生代谢产物喜树碱的影响)[J]. *Acta Ecol Sin*(生态学报),**24**(6): 1 118—1 122
Xiang Q(向秋),Lei X(雷迅),Huang LZ(黄岚珍). 2009. Study of metabolic conversion of mogrol glycosides in fruit of *Siraitia Grosvenorii*(罗汉果皂甙类成分代谢转化规律分析)[J]. *Biotechnology*(生物技术),**19**(4): 49—51
Xu XH(许翔鸿),Wang ZT(王峥涛),Yu GD(余国奠). 2004. Preliminary study on effects of light on plant development and alkaloid accumulation of *Corydalis rhizome*(光照对延胡索生长及生物碱积累影响的初步研究)[J]. *J Chin Med Mat*(中药材),**27**(11): 804—805
Yan XF(阎秀峰),Wang Y(王洋),Guo SL(郭盛磊),*et al.* 2004. Seasonal variations in biomass and salidroside content in roots of *Rhodiola sachalinensis* affected by gauze and red film shading(遮荫和红膜处理对高山红景天根生物量及红景天苷含量季节变化的影响)[J]. *Chin J Appl Ecol*(应用生态学报),**(15)**: 382—386
Yan XF(阎秀峰),Wang Y(王洋),Li YM(李一蒙). 2007. Plant secondary metabolism and its response to environment(植物次生代谢及其与环境的关系)[J]. *Acta Ecol Sin*(生态学报),**27**(6): 2 554—2 562
Zhong MC(钟名诚),Li Q(李琦),Xiao C(肖聪). 2010. Study on quality standard for fructus Momordicae(罗汉果的质量标准)[J]. *Chin Pharm*(中国药师),**13**(5):654—656
Zhu YJ,Komor E,Moore PH. 1997. Sucrose accumulation in the sugarcane stem is regulated by the difference between the activities of soluble acid invertase and sucrose phosphate synthase [J]. *Plant Physiol*,**115**(2): 609—616