

四季桂花瓣色素的初步鉴定与提取方法

蔡璇¹, 苏 蓂¹, 金荷仙^{2,3}, 姚崇怀¹, 王彩云¹

(1. 华中农业大学 园艺林学学院, 湖北 武汉 430070; 2. 浙江农林大学 园林学院, 浙江 临安 311300;

3. 《中国园林》杂志社, 北京 100835)

摘要: 对四季桂 *Osmanthus fragrans* ‘Siji Gui’ 花瓣色素溶液进行特征颜色反应和紫外-可见光谱法鉴定, 并对色素的提取方法进行了单因素与正交试验设计组合分析。结果表明: 四季桂花瓣色素主要为黄酮类化合物, 其次为类胡萝卜素。黄酮类化合物的特征吸收峰在 320 nm 处, 该类色素最佳提取条件为: 体积分数为 50% 的乙醇水溶液作为提取剂, 以 1 : 20 的料液比 (花瓣粉末单位为 g, 提取剂单位为 mL), 在 75 °C 的水浴中提取 3 h。类胡萝卜素中的 3 种常见化合物叶黄素、番茄红素、胡萝卜素, 其特征吸收峰分别在 443, 472 和 502 nm 处。该类色素的最佳提取条件为: 用丙酮:乙醇 (1 : 1) 溶液作为提取剂, 以 1 : 10 的料液比, 在 50 °C 的水浴锅中提取 3 h。图 3 表 5 参 17

关键词: 森林生物学; 四季桂; 提取; 花色; 黄酮类化合物; 类胡萝卜素

中图分类号: S718.4 文献标志码: A 文章编号: 1000-5692(2010)04-0559-07

Components and extraction methods for petal pigments of *Osmanthus fragrans* ‘Siji Gui’

CAI Xuan¹, SU Fan¹, JIN He-xian^{2,3}, YAO Chong-huai¹, WANG Cai-yun¹

(1. College of Horticulture and Forestry Sciences, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, Hubei, China; 2. College of Landscape Architecture, Zhejiang A & F University, Lin'an 311300, Zhejiang, China;

3. Chinese Landscape Architecture Magazine Publication, Beijing 100835, China)

Abstract: Characteristic color reactions and UV-visible spectra analysis for petal pigments of *Osmanthus fragrans* ‘Siji Gui’ and extraction methods for flavonoids and carotenoids from its flower were studied using single factor and orthogonal tests. Results for flavonoids showed a characteristic absorption peak of 320 nm with optimum extraction conditions being an immersion in 50% (V/V) ethanol aqueous solution at 45 °C for 3 h with a solid-liquid ratio of 1(g) : 20 (mL). For three common carotenoid compounds the characteristic absorption peaks were: lutein (443 nm), lycopene (472 nm), and carotene (502 nm) with the best extraction conditions being immersion in acetone: ethanol (1 : 1) solution at 50 °C for 3 h with a solid-liquid ratio of 1(g) : 10(mL). [Ch, 3 fig. 5 tab. 17 ref.]

Key words: forest biology; *Osmanthus fragrans* ‘Siji Gui’; extraction; flower color; flavonoid; carotenoid

桂花 *Osmanthus fragrans* 为原产中国的木犀科 *Osmanthaceae* 园林观赏植物, 享有“独占三秋压众芳”的美誉, 其树姿优美, 四季常绿, 是中国传统十大名花之一, 不仅在园林中广泛应用, 而且因其浓郁的芳香而成为中国重要的特产天然香料资源^[1]。前人以花色作为重要的分类依据, 将桂花分

收稿日期: 2009-06-24; 修回日期: 2009-11-06

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30671716); 湖北省自然科学基金资助项目(2007ABA005); 华中农业大学博士科研启动项目(522204-06013)

作者简介: 蔡璇, 从事园林植物栽培生理、采后及分子生物学研究。E-mail: luckily0615@163.com。通信作者: 王彩云, 教授, 博士, 从事园林植物栽培生理、采后及分子生物学研究。E-mail: wangcy@mail.hzau.edu.cn

为花色较淡的银桂品种群、黄色系的金桂品种群、橙色系的丹桂品种群及黄白色的四季桂品种群^[2]。桂花花瓣色素方面的研究较少,仅有李志州等^[3]、储敏^[4]、王桃云等^[5]在色素提取与稳定性方面以及陈洪国^[6]将桂花开花进程中花瓣色素的变化作为衰老指标之一进行的研究报道。桂花色素鉴定和提取的实验体系尚不够完善,阻碍了桂花花瓣色素形成与结构的进一步研究。因此,本研究以四季桂 *Osmanthus fragrans* ‘Siji Gui’ 为材料,旨在探索其优化的花瓣色素鉴定条件以及黄酮类化合物和类胡萝卜素的提取方法,为进一步开展桂花其他相关色素鉴定、提取和结构与代谢的研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料四季桂于2008年10月采自华中农业大学校园。采样树为树龄40~50 a的健康植株,无病虫害。选取盛花期、黄白色的花朵进行采摘。采后花瓣放于-70℃冰箱^[5],试验前置50~60℃烘箱中烘干,研成粉末后放于牛皮纸袋中于室温下避光干燥保存待用^[7]。

1.2 四季桂花瓣色素的初步鉴定

1.2.1 四季桂花瓣色素的颜色反应法鉴定 参考白新祥等^[8]方法,准确称取桂花花瓣粉末3份各0.1 g放于3个具塞试管中,分别加入体积分数为30%的氨水、体积分数为10%的盐酸和石油醚5 mL,观察并记录试验反应。

1.2.2 四季桂花瓣色素的紫外-可见光谱法鉴定 参考王桃云等^[5]方法,准确称取桂花花瓣粉末6份各0.1 g放于6个具塞试管中,分别加入甲醇、乙醇、石油醚、丙酮、丙酮:乙醇(1:1)、丙酮:石油醚(1:1)各10 mL,室温下浸提1 h后,将色素提取液放置于1 cm石英比色皿中,用SHIMADZU UV-2450紫外可见分光光度计在190~600 nm范围内进行扫描。

1.3 四季桂花瓣色素的提取

1.3.1 四季桂花瓣黄酮类化合物的提取 称取15份四季桂花瓣粉末各0.01 g,分别以体积分数为25%, 50%, 75%, 90%和100%的甲醇、乙醇和丙酮溶液^[5]于室温下浸提1 h,用于比较不同试剂的提取效果;称取5份花瓣粉末各0.01 g,以10 mL体积分数为75%乙醇溶液作为提取剂,在室温下分别浸提1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0和3.5 h,用于比较不同时间的提取效果;室温下按料液比(花瓣粉末单位为g,提取剂单位为mL)1:10, 1:20, 1:30, 1:40, 1:50, 1:60, 1:70, 1:80, 1:90和1:100,用体积分数为75%乙醇溶液浸泡花瓣粉末1 h,用于比较不同料液比的提取效果;称取5份花瓣粉末各0.01 g,在室温25, 30, 45, 60和75℃下各用10 mL体积分数为75%乙醇溶液浸提1 h,用于比较不同温度的提取效果。根据单因素试验结果,采用 $L_9(3^4)$ 正交表对提取条件进行优化(表1)。以上各试验重复3次,滤液在黄酮类化合物的特征吸收峰320 nm处测定吸光值^[9-10]。

表1 四季桂花瓣黄酮类色素提取的正交试验因素水平表 $L_9(3^4)$

Table 1 Petal flavonoids extracting orthogonal test factor level $L_9(3^4)$ of *Osmanthus fragrans* ‘Siji Gui’

水平	因素			
	A 乙醇体积分数/%	B 料液比	C 提取时间/h	D 温度/℃
1	25	1:20	2.5	45
2	50	1:30	3.0	60
3	75	1:40	3.5	75

说明:料液比中花瓣粉末单位为g,提取剂单位为mL。

1.3.2 四季桂花瓣类胡萝卜素类色素的提取

称取5份花瓣粉末各0.5 g,分别用10 mL的石油醚、乙酸乙酯、丙酮:乙醇(1:1)、丙酮:石油醚(1:1)和石油醚:乙醇(1:1)溶液^[5]于室温下浸提1 h,用于比较不同试剂的提取效果;称取6份花瓣粉末各0.5 g,以10 mL乙醇:丙酮(1:1)溶液作为提取剂,在室温下分别浸提1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0和3.5 h,用于比较不同时间的提取效果;室温下按料液比(花瓣粉末单位为g,提取剂单位为mL)为1:20, 1:40, 1:60, 1:80和1:100,用乙醇:丙酮(1:1)溶液浸泡花瓣粉末1 h,用于比较不同料液比的提取效果;称取5份花瓣粉末各0.5 g,在室温25, 30, 45, 60和75℃下各用10 mL乙醇:丙酮(1:1)溶液浸提1 h,用于比较不同温度的提取效果;根据单因素试验结果,用 $L_9(3^4)$ 正交表对提取条件进行优化(表2)。以上各试验重复3次,滤液在叶黄素、番茄红素和胡萝卜素的紫外最大吸

收峰 443, 472, 502 nm 处测定吸光值^[11]。

2 结果与分析

2.1 四季桂花瓣色素的初步鉴定

向四季桂花瓣的色素提取液中加入石油醚，浸提液表现为浅亮黄色，说明四季桂花瓣中含有类胡萝卜素；加入体积分数 10% 盐酸，浸提液呈现黄色，说明其中含有黄酮类化合物；加入体积分数 30% 氨水，浸提液呈现锈黄色，说明其中含有黄酮醇类化合物^[8]。

2.2 四季桂花瓣的吸收光谱特征

从图 1 可知，四季桂花瓣色素提取液的最高吸收峰在 320 nm 处，为黄酮类化合物的特征吸收峰。以丙酮：乙醇(1：1)作为提取试剂时，浸提液在类胡萝卜素的特征吸收峰处有波动现象，表明可能含有少量类胡萝卜素^[11]。

2.3 四季桂花瓣黄酮类化合物的提取

2.3.1 提取剂、提取时间、温度与料液比等单因素试验 由表 3 可知，甲醇和乙醇对桂花色素的提取效果较好，丙酮较差。不同体积分数的溶剂提取效果也不同。其中，体积分数为 25% 甲醇提取效果虽好，但甲醇有毒，一般不采用^[12]；用体积分数为 90% 的乙醇提取效果也很好，但时间长了容易将叶绿素提取出来^[13]，

所以应采用体积分数较低的乙醇溶液作为提取试剂。由图 2 可见，提取时间为 3 h 时，提取效果最好；料液比在 1：20 ~ 40 时对黄酮类化合物的提取效果最好；随着温度的升高，吸光度逐渐增大，但由于乙醇的沸点是 78.5 ℃，所以提取温度应在乙醇的沸点以下。

2.3.2 黄酮类化合物提取的最优工艺条件 根据表 1 的正交试验因素水平，对黄酮类化合物的提取条件进行正交设计，见表 4。各因子对提取率的影响依次为：提取温度、提取料液比、提取剂体积分数和提取时间，最优工艺条件为：A₂B₁C₂D₃，即体积分数为 50% 的乙醇、料液比 1：20、提取时间 3 h 和温度 75 ℃。

表 2 四季桂花瓣类胡萝卜素色素提取的正交试验因素水平表 $L_9(3^4)$

Table 2 Petal carotenoids extracting orthogonal test factor level $L_9(3^4)$ of *Osmanthus fragrans* ‘Siji Gui’

水平	因素		
	E 提取时间/h	F 料液比	G 温度/℃
1	2.0	1：10	45
2	2.5	1：20	40
3	3.0	1：30	50

说明：料液比中花瓣粉末单位为 g，提取剂单位为 mL。

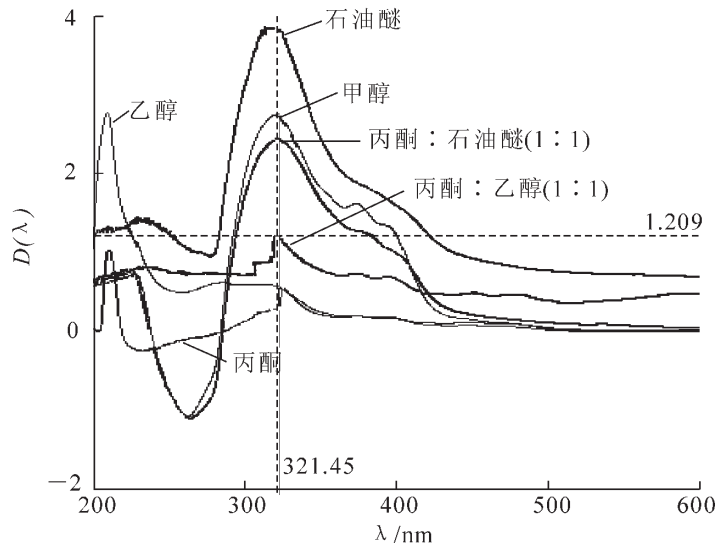


图 1 四季桂花瓣色素浸提液吸收光谱特征图

Figure 1 Absorption spectra characteristic of *O. fragrans* ‘Siji Gui’ petal pigment

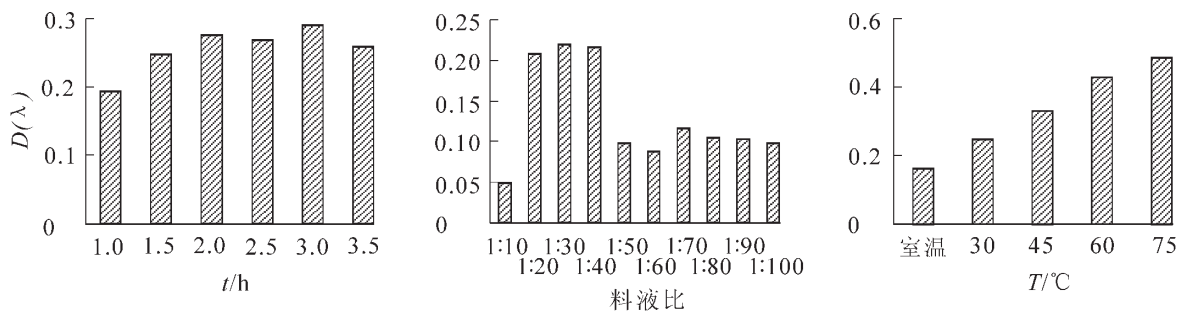


图 2 不同提取时间、料液比及温度对四季桂花瓣黄酮类化合物的提取效果

Figure 2 Effect of different extracting time, material-solvent ratios, and temperatures to extract petal flavonoids of *Osmanthus fragrans* ‘Siji Gui’

2.4 四季桂花瓣类胡萝卜的提取方法

2.4.1 提取剂、提取时间、温度与料液比等单因素试验 由图3可以看出,石油醚与丙酮:乙醇(1:1)溶液提取的四季桂花瓣提取液在443, 472和502 nm下的吸光度都很高。但由于石油醚溶液作提取剂时,四季桂花瓣粉末粘于试管壁,所以宜采用丙酮:乙醇(1:1)溶剂作为提取剂。提取时间为2.5和3.5 h时出现了波峰,但时间过长会引起溶剂挥发,导致提取物浓度的升高,因此提取时间为2.5 h较好。在料液比为1:20时,有明显的吸收峰。在提取温度为45, 60 ℃时均有吸收峰,但由于丙酮的沸点为56.5 ℃,乙醇的沸点为78.5 ℃,温度为45.0 ℃时提取效果较好。

2.4.2 类胡萝卜素提取的最优工艺条件 根据表2对类胡萝卜素的提取条件进行正交试验设计(表5)。由此可知,在不同的吸光度下,各因素对提取率的影响由大到小依次为:料液比、提取温度和提取时间。其最佳工艺条件都为 $E_3F_1G_3$,即提取时间3 h,料液比1:10,温度50 ℃。

3 讨论

黄酮类化合物易溶于甲醇、乙醇等溶剂,难溶于水,且在低浓度的甲醇中,其溶解性较好,所以甲醇一直被广泛用于天然黄酮类化合物的提取^[14]。但在玫瑰 *Rosa rugosa* 花瓣^[15]的黄酮类色素提取工艺研究中发现,乙醇作为提取剂时,提取效果也很好,甚至超过甲醇;近几年在提取八仙花 *Hydrangea macrophylla* 花瓣黄酮类化合物时,也有用乙醇作为提取剂^[16]。鉴于甲醇的毒性,黄酮类化合物的提取纯化产物多用于医药和食品,因此在本次试验中选取体积分数为50%的乙醇为四季桂花瓣中黄酮类化合物提取的最佳试剂。选取1:20的料液比在45.0 ℃的条件下浸提3 h时的效果最佳。本实验所得的最佳提取条件与前人在桂花总黄酮含量测定试验^[17]中所得的结果略有差异,可能是由于选取的实验材料及实验环境不同。在对四季桂花瓣类胡萝卜素的提取试验中虽然发现用石油醚和丙酮:乙醇(1:1)作为溶剂提取效果都很好,但使用石油醚时,花瓣粉末易粘于试管壁,增加了纯化回收的难度^[7],因此本试验选用丙酮:乙醇(1:1)溶液作为提取剂,以1:10的料液比在50.0 ℃的条件下浸提3 h获得最佳的提取效果。而本研究只选取了叶黄素、番茄红素和胡萝卜素作为类胡萝卜素的代表进行分析,结果可能会有一定的局限性。而且黄酮类化合物和类胡萝卜素的种类都十分丰富,因此在科研或生产中可根据实际情况对最佳提取条件进行选择。下一步的工作是进一步分离纯化或采用色谱质谱联用、核磁共振等仪器确定色素物质的结构,从次生代谢产物水平分析不同桂花品种花色的差异与机理,也作为桂花花色育种工作的参考。

表3 四季桂花瓣不同提取剂各浓度下浸提液的吸光度($\lambda = 320$ nm)

Table 3 *Osmanthus fragrans* 'Siji Gui' petal pigment absorbances of extraction solvents and different concentrations ($\lambda=320$ nm)

提取剂	不同体积分数下的浸提液吸光度				
	25%	50%	75%	90%	100%
甲醇	0.408	0.231	0.308	0.160	0.131
乙醇	0.003	0.096	0.043	0.112	0.042
丙酮	—	—	—	—	—

说明: “—”表示吸光值不可读。

表4 四季桂花瓣黄酮类化合物提取的正交试验结果

Table 4 Orthogonal test results of extracting petal flavonoids of *O. fragrans* 'Siji Gui'

实验号	因素				吸光度 ($\lambda = 320$ nm)
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	0.082 0
2	1	2	2	2	0.069 0
3	1	3	3	3	0.086 0
4	2	1	2	3	0.213 0
5	2	2	3	1	0.064 0
6	2	3	1	2	0.079 0
7	3	1	3	2	0.121 0
8	3	2	1	3	0.111 0
9	3	3	2	1	0.050 0
k_1	0.079 0	0.138 7	0.090 7	0.065 3	
k_2	0.118 7	0.081 3	0.110 7	0.089 7	
k_3	0.094 0	0.071 7	0.090 3	0.136 7	
R	0.039 7	0.067 0	0.020 3	0.071 3	
因素主次	D	B	A	C	
最佳组合	$A_2B_1C_2D_3$				

说明: k 为第 i 因素第 j 水平所对应的试验指标和的平均值, R 为第 i 因素的极差。

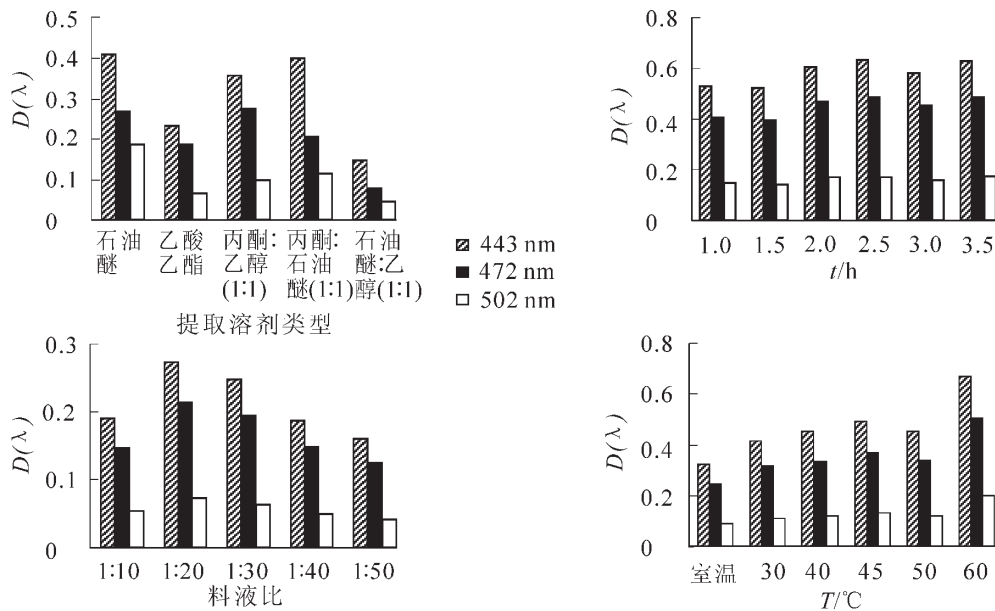


图 3 不同提取溶剂、提取时间、料液比及温度对四季桂花瓣类胡萝卜素的提取效果

Figure 3 Effect of different solvent types, time, material-solvent ratios and temperature to extract petal carotenoids of *Osmanthus fragrans* 'Siji Gui'

表 5 四季桂花瓣类胡萝卜素提取的正交试验结果

Table 5 Orthogonal test result of extracting petal carotenoids of *Osmanthus fragrans* 'Siji Gui'

试验号	因素			不同波长下的吸光度		
	E	F	G	443	472	502 nm
1	1	1	1	0.558 0	0.406 0	0.091 0
2	1	2	2	0.273 0	0.198 0	0.041 0
3	1	3	3	0.195 0	0.138 0	0.029 0
4	2	1	2	0.373 0	0.268 0	0.059 0
5	2	2	3	0.348 0	0.249 0	0.058 0
6	2	3	1	0.294 0	0.212 0	0.043 0
7	3	1	3	0.672 0	0.498 0	0.110 0
8	3	2	1	0.317 0	0.226 0	0.036 0
9	3	3	2	0.262 0	0.186 0	0.020 0
$k_{1(443\text{ nm})}$	0.342 0	0.534 3	0.389 7			
$k_{2(443\text{ nm})}$	0.338 3	0.312 7	0.302 7	因素主次: F>G>E 最佳组合: E ₃ F ₁ G ₃		
$k_{3(443\text{ nm})}$	0.417 0	0.250 3	0.405 0			
$R_{(443\text{ nm})}$	0.078 7	0.284 0	0.102 3			
$k_{1(472\text{ nm})}$	0.247 3	0.390 7	0.281 3			
$V_{2(472\text{ nm})}$	0.243 0	0.224 3	0.217 3	因素主次: F>G>E 最佳组合: E ₃ F ₁ G ₃		
$k_{3(472\text{ nm})}$	0.303 3	0.178 7	0.295 0			
$R_{(472\text{ nm})}$	0.060 3	0.212 0	0.077 7			
$k_{1(502\text{ nm})}$	0.053 7	0.086 7	0.040 0			
$k_{2(502\text{ nm})}$	0.053 3	0.045 0	0.056 7	因素主次: F>G>E 最佳组合: E ₃ F ₁ G ₃		
$k_{3(502\text{ nm})}$	0.055 3	0.030 7	0.065 7			
$R_{(502\text{ nm})}$	0.002 0	0.056 0	0.025 7			

参考文献:

- [1] 臧德奎. 桂花品种分类研究 [D]. 南京: 南京林业大学, 2004.
ZANG Dekui. *Studies on the Cultivar Classification of Sweet Osmanthus* [D]. Nanjing: Nanjing Forestry University, 2004.
- [2] 刘玉莲. 桂花品种分类及木犀属种质资源的利用 [J]. 植物资源与环境, 1993, 2 (2): 44 - 48.
LIU Yulian. Cultivar classification of *Osmanthus fragrans* Lour. and the development of germplasm resources of *Osmanthus* Lour. [J]. *J Plant Resour Environ*, 1993, 2 (2): 44 - 48.
- [3] 李志洲, 杨海涛. 桂花色素的提取及其稳定性的研究 [J]. 氨基酸和生物资源, 2005, 27 (3): 4 - 6.
LI Zhizhou, YANG Haitao. Study on extraction and stability of pigment from *Osmanthus* [J]. *Amino Acids & Biotic Resour*, 2005, 27 (3): 4 - 6.
- [4] 储敏. 金桂与丹桂醇溶性色素的提取及其稳定性比较 [J]. 氨基酸和生物资源, 2006, 29 (1): 1 - 3.
CHU Min. Extraction and stability of rthanol-solvent pigments from *Osmanthus fragrans* var. *thunbergii* and *Osmanthus fragrans* var. *aurantiacus* [J]. *Amino Acids & Biotic Resour*, 2006, 29 (1): 1 - 3.
- [5] 王桃云, 陈海华, 张珍珍, 等. 桂花色素提取工艺的优化研究 [J]. 苏州科技学院学报: 自然科学

- 学版, 2009, **26** (1): 44 – 48.
- WANG Taoyun, CHEN Haihua, ZHANG Zhenzhen, *et al.* An optimal study on extraction technology of pigment from *Osmanthus fragrans* [J]. *J Suzhou Univ Sci Technol Nat Sci*, 2009, **26** (1): 44 – 48.
- [6] 陈洪国. 桂花开花进程中花瓣色素、可溶性糖和蛋白质含量的变化[J]. 武汉植物学研究, 2006, **24** (3): 231 – 234.
- CHEN Hongguo. Changes of pigment, soluble sugar and protein content of petal during florescence and senescence of *Osmanthus fragrans* Lour. [J]. *J Wuhan Bot Res*, 2006, **24** (3): 231 – 234.
- [7] 李娟. 橙色大白菜类胡萝卜素和黄酮提取测定方法及其积累规律的研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2007.
- LI Juan. *The Study of Extraction and Determination of Carotenoid and Flavonoids in Orange-Heading Chinese Cabbages and Its Accumulation* [D]. Yangling: Northwest A & F University, 2007.
- [8] 白新祥, 胡可, 戴思兰, 等. 不同花色菊花品种花色素成分的初步分析[J]. 北京林业大学学报, 2006, **28** (5): 57 – 63.
- BAI Xinxiang, HU Ke, DAI Silan, *et al.* Components of flower pigments in the petals of different color *Chrysanthemum morifolium* [J]. *J Beijing For Univ*, 2006, **28** (5): 57 – 63.
- [9] 杨万政, 陈慧英, 李道远. 玫瑰花红色素及其稳定性研究[J]. 中央民族大学学报: 自然科学版, 2003, **1** (12): 64 – 68.
- YANG Wanzheng, CHEN Huiying, LI Daoyuan. The extraction of natural rose pigment and the study of its stability [J]. *J Cent Univ National Nat Sci Ed*, 2003, **1** (12): 64 – 68.
- [10] PAN Yingming, ZHU Zhiren, HUANG Zhili, *et al.* Characterisation and free radical scavenging activities of novel red pigment from *Osmanthus fragrans*' seeds [J]. *Food Chem*, 2009, **112**: 909 – 913.
- [11] 赵昶灵, 郭维明, 陈俊愉. 梅花花色色素种类和含量的初步研究[J]. 北京林业大学学报, 2004, **26** (2): 68 – 73.
- ZHAO Changling, GUO Weiming, CHEN Junyu. Preliminary study on the categories and contents of the flower color pigments of *Prunus mume* [J]. *J Beijing For Univ*, 2004, **26** (2): 68 – 73.
- [12] 曾凡坤, 王中凤, 吴永娴. 甜橙皮类胡萝卜素提取研究[J]. 西南农业大学学报, 1994, **16** (4): 327 – 329.
- ZENG Fankun, WANG Zhongfeng, WU Yongxian. On optimum conditions for extracting carotenoids in sweet orange peel [J]. *J Southwest Agric Univ*, 1994, **16** (4): 327 – 329.
- [13] 胡静丽, 陈健初. 杨梅叶黄酮类化合物最佳提取工艺研究[J]. 食品科学, 2003, **24** (1): 96 – 99.
- HU Jingli, CHEN Jianchu. Study on the optimum extracting conditions of flavonoids from *Myrica rubra* leaves [J]. *Food Sci*, 2003, **24** (1): 96 – 99.
- [14] 安田齐. 花色的生理生物化学[M]. 北京: 中国林业出版社, 1989: 60 – 75.
- [15] 杜鹃, 张晓敏, 徐金玉, 等. 玫瑰花中黄酮类色素的提取工艺研究[J]. 冷饮与速冻食品工业, 2006, **12** (1): 23 – 26.
- DU Juan, ZHANG Xiaomin, XU Jinyu, *et al.* Study of optimum extracting method of rose pigment [J]. *Beverage & Fast Frozen Food Ind*, 2006, **12** (1): 23 – 26.
- [16] 蒋新龙. 绣球花花、叶总黄酮的提取工艺和含量测定[J]. 丽水学院学报, 2007, **29** (5): 37 – 41.
- JIANG Xinlong. On extracting method of flavonoid from flowers and leaves of *Hydrangea macrophylla* [J]. *J Lishui Univ*, 2007, **29** (5): 37 – 41.
- [17] 蔡健, 王薇. 桂花中总黄酮含量的测定[J]. 食品科技, 2007 (4): 178 – 180.
- CAI Jian, WANG Wei. Determination of the total flavonoids in sweet-scented *Osmanthus* [J]. *Food Sci Technol*, 2007 (4): 178 – 180.