

金佛手香气物质的多维分析及其特征香气物质的确定

宋诗清¹, 童彦尊¹, 冯涛^{1*}, 朱建才¹, 王一非¹, 孙敏¹, 姚凌云¹, 徐志民²

(1. 上海应用技术大学香料香精技术与工程学院, 上海 201418;

2. 美国路易斯安那州立大学食品科学系, 美国 路易斯安那 巴吞鲁日 70802)

摘要: 采用顶空固相微萃取 (headspace solid-phase microextraction, HS-SPME) 和 Tenax TA 吸附剂吹扫捕集 (purge and trap, P&T) 提取金佛手肉和皮的香气, 通过气相色谱-质谱分别检测出 44 种和 45 种香气物质, 结果显示采用 HS-SPME 和 P&T 萃取金佛手香气物质具有良好的互补性。采用 HS-SPME 萃取金佛手肉和金佛手皮, 通过全二维气相色谱-四极杆质谱分别检测出 43 种和 40 种相似度高的香气物质。此外有 23 种物质香气活力值大于 1, 结合偏最小二乘回归分析得出对金佛手香气贡献较大的物质是柠檬烯、芳樟醇、 α -蒎烯、 β -蒎烯、月桂烯、 γ -松油烯、异松油烯、辛酸乙酯、香叶醇、柠檬醛和叶醇等。

关键词: 新鲜金佛手; 香气物质; 顶空固相微萃取; 吹扫捕集; 偏最小二乘回归法; 全二维气相色谱

Multidimensional Analysis of Odorous Compounds in Finger Citron Fruit (*Citrus medica* L. var. *sarcodactylis* Swingle) and Identification of Key Aroma Compounds

SONG Shiqing¹, TONG Yanzun¹, FENG Tao^{1*}, ZHU Jiancai¹, WANG Yifei¹, SUN Min¹, YAO Lingyun¹, XU Zhimin²

(1. School of Perfume and Aroma Technology, Shanghai Institute of Technology, Shanghai 201418, China;

2. Department of Food Science, Louisiana State University, Baton Rouge 70802, USA)

Abstract: Odorous compounds in the pulp and skin of finger citron fruits were analyzed by headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) and purge and trap (P&T) with Tenax TA absorbent. A total of 44 and 45 odorous compounds were detected from the flesh (A) and peel (B) of Jinghua-grown finger citron (JFC) by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), respectively. The results showed that HS-SPME and P&T method could be used complementarily in the identification of odorous compounds in finger citron fruits. Furthermore, 43 and 40 odorous compounds with high similarity were extracted by HS-SPME from A and B and detected by comprehensive two-dimensional gas chromatography combined with quadrupole-mass spectrometry (GC $\times$ GC-qMS), respectively. Additionally, there are 23 odorous compounds with odor activity value (OAV) > 1. The major contributors to JFC aroma were identified as limonene, linalool, terpinolene, α -pinene, β -pinene, myrcene, γ -terpinene, ethyl octanoate, geraniol, citral, leaf alcohol, etc. by partial least squares regression (PLSR).

Key words: fresh finger citron; odorous compounds; headspace solid-phase microextraction (HS-SPME); purge and trap (P&T); partial least squares regression (PLSR); comprehensive two-dimensional gas chromatography (GC $\times$ GC)

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201724015

中图分类号: TS255.1

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2017) 24-0094-07

引文格式:

宋诗清, 童彦尊, 冯涛, 等. 金佛手香气物质的多维分析及其特征香气物质的确定[J]. 食品科学, 2017, 38(24): 94-100.

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201724015. <http://www.spkx.net.cn>

SONG Shiqing, TONG Yanzun, FENG Tao, et al. Multidimensional analysis of odorous compounds in finger citron fruit (*Citrus medica* L. var. *sarcodactylis* Swingle) and identification of key aroma compounds[J]. Food Science, 2017, 38(24): 94-100. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-201724015. <http://www.spkx.net.cn>

收稿日期: 2017-03-12

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (31371736)

作者简介: 宋诗清 (1982—), 女, 副教授, 博士, 研究方向为食品风味化学。E-mail: sshiqing@163.com

*通信作者: 冯涛 (1978—), 男, 教授, 博士, 研究方向为食品风味化学。E-mail: fengtao@sit.edu.cn

佛手 (*Citrus medica* L. var. *sarcodactylis* Swingle) 是芸香科柑橘属植物香橼的变种之一, 是一种传统的名贵药材, 其挥发油含量较高, 不仅是一种名贵的香料油, 且具有消炎、抗癌等药用功效, 可应用于食品和化妆品中^[1-2]。佛手油的主要成分以烯烃、醇类和酯类化合物为主, 且与佛手品种、栽培地点和提取方法等关系密切^[3-4]。

目前, 对金佛手挥发性成分的研究主要对挥发油展开, Bakkali等^[5]指出芳樟醇和乙酸芳樟酯是佛手挥发油的主要成分。Njoroge等^[6]用冷榨法提取日本不同地区的佛手油, 通过气相色谱-质谱 (gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS) 进行分析得出每种油的单萜成分都超过90%。Deng Gang等^[7]将真空蒸馏得到的金佛手精油和金佛手果汁混合, 创造出一种精加工香橼果汁。Shu等^[8]用高效液相色谱鉴定了金佛手内酯。GC-MS的应用使香气成分的研究有了巨大进步, 而提取技术在香气物质定性和定量分析中起重要作用, 如同时蒸馏萃取、顶空-固相微萃取 (headspace-solidphase microextraction, HS-SPME)、搅拌棒萃取和吹扫 & 捕集 (purge and trap, P&T) 已被应用到研究中^[9]。HS-SPME可与GC-MS联用仪或液相色谱仪联用来提高效率, 在香气成分的研究中十分常见。P&T要结合吸附热脱附使用, 该技术基于动态顶空原理, 挥发性组分会随着惰性气体的带动一起被排出, 随后在热脱附管中被吸附剂捕集, 从而完成采集进样^[10]。该技术在水果的挥发性物质采集中的运用较新颖, 能与高分辨毛细管气相色谱或GC-MS兼容, 适用于高分子质量的挥发性及半挥发性物质的前处理^[11]。二维气相色谱 (comprehensive two-dimensional gas chromatography, GC×GC) 也逐渐被运用到香气物质的研究中, 已被证明能提升植物样品的分离程度和定性能力^[12], 但目前主要用于石油和烟酒的质检中^[13-15]。此外, 有报道证明GC×GC能有效分离萜类物质^[16], 表明GC×GC或许适用于萜类物质含量较高的柑橘属水果的香气研究中, 而金佛手精油中多次被检测到有高含量的萜烯类物质^[17-18]。研究目的在于, 通过比较2种不同的萃取方法对金佛手香气物质的提取效果, 结合GC-MS检测结果, 以香气活力值 (odor activity value, OAV) 为指标, 建立偏最小二乘回归 (partial least squares regression, PLSR) 模型, 最终确定金佛手中关键的香气物质。并使用全二维气相色谱-四极杆质谱 (comprehensive two-dimensional gas chromatography combined with quadrupole-mass spectrometry, GC×GC-qMS) 对金佛手香气进行研究, 期望通过提升分离和定性的能力来检测金佛手中的微量成分并验证GC-MS的检测结果。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

金华佛手柑 (栽培品种为南京种, 采摘于2016年12月, 可溶性固形物质量分数为14.5%, 总糖质量分数8.7%, 水分质量分数86.9%) 浙江金手宝生物科技有限公司; 4-甲基-2-戊酮、正构烷烃 (均为色谱纯) 德国Dr.Ehrenstorfer公司。

1.2 仪器与设备

7890A-5975C型GC-MS联用仪 安捷伦科技 (中国) 有限公司; GCMS-QP2010 Ultra型GC×GC-qMS联用仪 岛津企业管理 (中国) 有限公司。

1.3 方法

1.3.1 样品预处理

金佛手肉: 将新鲜的金佛手洗净后削去表皮, 将去皮的金佛手粉碎至细小颗粒状, 保存待用。金佛手皮: 收集之前削下的表皮粉碎至细小片状, 保存待用。

1.3.2 HS-SPME法测定

准确称取1.0 g样品, 放入20 mL萃取瓶中, 加40 μ L内标物 (748 mg/L 4-甲基-2-戊酮), 在 (40 $\pm$ 1) $^{\circ}$ C条件下平衡30 min, 用老化好的SPME装置 (50/30 μ m纤维头: DVB/CAR/PDMS) 顶空萃取30 min, 再将萃取装置插入GC进样器, 在250 $^{\circ}$ C不分流模式下解吸3 min。

1.3.3 P&T-热脱附法测定

准确称取10 g样品和200 μ L内标物到吹扫瓶中, 接通流速为60 mL/min的氮气, 持续吹扫1 h, 将挥发物质吹扫到热脱附管 (170 mm $\times$ 6 mm, 4 mm, 填充物Tenax TX吸附剂) 中, 热脱附管需提前在280 $^{\circ}$ C条件下老化90 min, 再将热脱附管装在热脱附仪TDS3上解吸。

热脱附条件: 初始温度40 $^{\circ}$ C, 延迟运行1 min, 以60 $^{\circ}$ C/min升温至250 $^{\circ}$ C, 保持0.1 min, 传输线温度250 $^{\circ}$ C; 用冷却进样系统CIS4快速冷却至预备温度50 $^{\circ}$ C。冷却进样采用标准加热模式, 液氮冷却, 初始温度-90 $^{\circ}$ C, 以12 $^{\circ}$ C/s升温至250 $^{\circ}$ C, 保持1 min。

1.3.4 GC-MS检测条件

GC条件: HP-INNOWAX色谱柱 (60 m $\times$ 0.25 mm, 0.25 μ m); 载气N₂, 流量为3 mL/min, 不分流; 进样口温度250 $^{\circ}$ C; 升温程序: 40 $^{\circ}$ C保留3 min, 以3 $^{\circ}$ C/min升温至100 $^{\circ}$ C, 然后以5 $^{\circ}$ C/min升温至230 $^{\circ}$ C, 保留20 min。

MS条件: 采用电子电离源; 电离能量70 eV; 离子源温度230 $^{\circ}$ C; 接口温度250 $^{\circ}$ C; 采用全扫描方式; 质量扫描范围m/z 20~350。

1.3.5 GC×GC-qMS检测条件

GC条件: 柱1采用HP-INNOWAX (30 m $\times$ 0.25 mm, 0.25 μ m), 柱2采用BPX-5 (2.5 m $\times$

0.1 mm, 0.1 μm)。进样口温度250 $^{\circ}\text{C}$, 柱1和柱2均60 $^{\circ}\text{C}$ 保留3 min, 以3 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速率升温至230 $^{\circ}\text{C}$, 保留5 min。载气 N_2 , 柱流速0.95 mL/min, 分流比5:1, 采用线速度方式(线速率110.8 cm/s)控制载气, 压力210.0 kPa, 总流速8.7 mL/min。

MS条件: 电子电离源; 电离能量70 eV; 离子源温度230 $^{\circ}\text{C}$; 传输线温度250 $^{\circ}\text{C}$; 溶剂延迟时间3 min。采用全扫描方式; 质量扫描范围 m/z 31~325; 扫描频率20 000 Hz, 调至周期8 s。

1.3.6 OAV测定

通过测定香气物质的OAV评定金佛手的关键香气成分。OAV为特定化合物样品气味的重指标, 等于化合物的浓度与水中的嗅觉阈值之间的比值^[19-20]。

1.4 数据处理

采用NIST 08和Wiley谱库对分离出的峰进行检索, 通过正构烷烃($\text{C}_4\sim\text{C}_{30}$) 在相同条件下的保留时间, 按保留指数(retention index, RI) 公式计算挥发性物质的RI^[21]。将算得的RI与Wiley 7n.1数据库进行匹配, 定性得到的有效挥发性物质通过内标法进行定量计算^[22]。RI按公式(1)计算:

$$\text{RI} = \left(\frac{\lg t_x - \lg t_z}{\lg t_{z+1} - \lg t_z} + z \right) \times 100 \quad (1)$$

式中: t_x 为挥发性物质的保留时间/min; t_z 为与挥发性物质碳原子属相同的正构烷烃的保留时间/min; z 为挥发性物质的碳原子数。

挥发性物质含量按公式(2)计算:

$$w_i = \frac{m_s \times A_i}{A_s \times m_0} \quad (2)$$

式中: w_i 为挥发性物质含量/ $\mu\text{g}/\text{g}$; m_s 为内标物质量/ μg ; A_i 为挥发性物质峰面积; A_s 为内标物的峰面积; m_0 为佛手样品质量/g。

进行3次重复实验, 香气物质含量数据为取3次实验平均值, 再采用SAS 8.2进行方差分析, 根据Duncan的多范围测试结果具有显著性($P < 0.05$)。

分析OAV大于1的化合物与2种萃取方法间的相关性, 采用Unscrambler 9.7进行PLSR分析, PLSR的相关数据进行中心化与标准化(1/Sdev)处理, 模型采用Full Cross-Validation进行校正。

2 结果与分析

2.1 不同萃取方法测定结果比较

采用HS-SPME和P&T分别萃取金佛手肉和金佛手皮的香气物质, 经过GC-MS检测, 结果如表1所示, 2种方法分别从金佛手肉和金佛手皮中共检测出44种和45种香气物质。从金佛手肉中检测出24种萜烯类物质、5种醛类物质、8种醇类物质、2种烷烃类物质、3种酯类

物质和2种酮类物质。其中被2种萃取方法都检测出的有22种, 包括14种萜烯类物质(柠檬烯、 α -蒎烯、 β -蒎烯、反式石竹烯、月桂烯、 γ -松油烯、异松油烯、香柠檬烯、没药烯、侧柏烯、大根香叶烯等), 4种醇类物质(香茅醇、香叶醇、芳樟醇、橙花醇), 2种醛类物质(柠檬醛、香茅醛)、2种烷烃类物质(对伞花烯、4-异丙基甲苯)。其中有研究表明柠檬烯、 γ -松油烯、 α -蒎烯、 β -蒎烯、香柠檬烯和芳樟醇是佛手精油中的主要香气物质^[23]。

通过HS-SPME从金佛手肉中检测出32种香气物质, 其中萜烯类物质21种、醛类物质3种、醇类物质5种、烷烃类物质2种、酯类物质1种。通过P&T从金佛手肉中检测到34种香气物质, 其中萜烯类物质17种、醛类物质4种、醇类物质7种、酯类物质2种、烷烃类物质2种、酮类物质2种。可见HS-SPME能吸附更多微量的萜烯类物质, 如 α -紫穗槐烯、 δ -杜松烯、桉烯和双环大根香叶烯等, 这类物质含量低, 在金佛手整体香气中主要起到修饰圆和作用。而P&T从金佛手肉中单独检测到的香气物质有橙花醛、正己醛、反-2-己烯醇、叶醇、乙酸甲酯、乙酸乙酯、甲基庚烯酮和 β -紫罗兰酮等。这是因为P&T属于动态顶空法, 与静态顶空相比对不同种类的物质有更好的萃取效果。因此对新鲜水果做香气成分分析时, 可将HS-SPME和P&T 2种方法共同使用, 2种方法均不会破坏水果的香气成分, 还能达到互补效果。

从金佛手皮中检测出24种萜烯类物质、5种醛类物质、8种醇类物质、2种烷烃类物质、4种酯类物质和2种酮类物质。2种萃取方法都从金佛手皮中检测出的香气物质有22种, 香气物质的种类与金佛手肉的检测结果相同, 这与Venturini等^[23]的研究结果相符, 表明金佛手的果肉与表皮的香气相似。通过HS-SPME和P&T分别从金佛手皮中检测出32种和35种香气物质。此外, 金佛手肉和金佛手皮在2种方法处理下测得萜烯类物质的含量极高, 均占总量的92%以上, 其中采用HS-SPME处理达96%。其次是醇类物质和醛类物质, 而烷烃类、酮类和酯类物质占比均不到1%。其中占主要比例的物质为柠檬烯(占比大于46%)、 γ -松油烯(占比大于27%)、 β -蒎烯(占比大于3%)、反式石竹烯(大于1%)、异松油烯(1%~4%), 结果与Shiota^[24]、Dũng^[25]、Zhao Xingjie^[26]、Peng^[27]、Wu Zhen^[28]和Yang Jun^[18]等基本相符。比较2种方法对金佛手肉和金佛手皮的检测结果, 香气物质的种类和含量都十分相似, 表明2种萃取方法对金佛手皮和肉的主体香气成分提取十分有效。

检测结果的不同之处主要体现在两点。一方面, 金佛手肉的主要香气成分(柠檬烯、 γ -松油烯、石竹烯、异松油烯、香柠檬烯、 α -松油醇、橙花醇、香叶醇和叶醇)的含量低于金佛手皮, 而通过HS-SPME检出的香气物质含量普遍高于P&T。这体现了金佛手皮的香气强度

可能大于金佛手肉,且HS-SPME的整体萃取效果更好。另一方面,一些高分子物质(白菖烯、 γ -杜松烯、蒾烯、律草烯、乙酸香叶酯)仅在单组实验中被检测出,这些物质含量低,对香气的影响较小。

表 1 2 种不同的萃取方法对金佛手香气物质的鉴定及含量
Table 1 Identification and quantification of odorous compounds detected in JFC by two different extraction methods

序号	化合物名称	RI	鉴定方法	香气物质含量/($\mu\text{g/g}$)			
				金佛手肉		金佛手皮	
				HS-SPME	P&T	HS-SPME	P&T
萜烯类							
1	α -蒾烯	1031	MS, RI	4.8 $\pm$ 0.3	1.4 $\pm$ 0.3	3.2 $\pm$ 0.1	1.1 $\pm$ 0.1
2	石竹烯	1612	MS, RI	8.5 $\pm$ 0.3	7.6 $\pm$ 0.3	30.0 $\pm$ 0.3	16.0 $\pm$ 0.3
3	月桂烯	1170	MS, RI	8.3 $\pm$ 0.1	6.6 $\pm$ 0.1	13.0 $\pm$ 0.3	7.4 $\pm$ 0.3
4	β -蒾烯	1117	MS, RI	87.0 $\pm$ 0.3	36.0 $\pm$ 0.3	85.0 $\pm$ 0.3	26.0 $\pm$ 0.3
5	柠檬烯	1212	MS, RI	5.1 $\times 10^2 \pm 2.1$	3.5 $\times 10^2 \pm 1.0$	6.6 $\times 10^2 \pm 2.2$	4.0 $\times 10^2 \pm 2.9$
6	α -紫穗槐烯	1719	MS, RI	1.0 $\pm$ 0.1	—	1.1 $\pm$ 0.3	—
7	δ -杜松烯	1764	MS, RI	1.1 $\pm$ 0.1	—	1.7 $\pm$ 0.2	—
8	γ -杜松烯	1762	MS, RI	0.2 $\pm$ 0.2	—	—	—
9	γ -木罗烯	1692	MS, RI	—	0.11 $\pm$ 0.1	—	0.38 $\pm$ 0.3
10	桉烯	1130	MS, RI	0.82 $\pm$ 0.1	—	4.3 $\pm$ 0.3	—
11	异松油烯	1287	MS, RI	12.0 $\pm$ 0.3	32.0 $\pm$ 0.2	49.0 $\pm$ 0.4	32.0 $\pm$ 0.4
12	别罗勒烯	1382	MS, RI	0.62 $\pm$ 0.3	—	3.9 $\pm$ 0.2	—
13	β -水芹烯	1218	MS, RI	6.5 $\pm$ 0.2	—	8.3 $\pm$ 0.1	—
14	可巴烯	1495	MS, RI	0.21 $\pm$ 0.1	0.18 $\pm$ 0.1	0.73 $\pm$ 0.2	0.35 $\pm$ 0.1
15	β -没药烯	1723	MS, RI	10.0 $\pm$ 0.3	8.0 $\pm$ 0.3	22.0 $\pm$ 0.2	16.0 $\pm$ 0.3
16	γ -松油烯	1237	MS, RI	2.8 $\times 10^2 \pm 2.2$	2.4 $\times 10^2 \pm 1.1$	4.6 $\times 10^2 \pm 0.9$	2.2 $\times 10^2 \pm 1.0$
17	α -侧柏烯	1038	MS, RI	3.3 $\pm$ 0.2	1.3 $\pm$ 0.2	4.6 $\pm$ 0.1	1.7 $\pm$ 0.3
18	香柠檬烯	1588	MS, RI	5.8 $\pm$ 0.3	5.3 $\pm$ 0.1	22.0 $\pm$ 0.4	16.0 $\pm$ 0.3
19	β -金合欢烯	1669	MS, RI	0.98 $\pm$ 0.1	0.38 $\pm$ 0.2	2.1 $\pm$ 0.2	1.7 $\pm$ 0.1
20	大根香叶烯	1714	MS, RI	3.2 $\pm$ 0.3	4.6 $\pm$ 0.1	9.8 $\pm$ 0.3	8.6 $\pm$ 0.1
21	表- β -檀香萜烯	1648	MS, RI	0.31 $\pm$ 0.2	0.33 $\pm$ 0.3	2.0 $\pm$ 0.2	1.1 $\pm$ 0.3
22	双环大根香叶烯	1756	MS, RI	1.4 $\pm$ 0.4	—	3.8 $\pm$ 0.5	—
23	蒾烯	1687	MS, RI	—	—	0.36 $\pm$ 0.2	—
24	α -没药烯	1740	MS, RI	—	0.53 $\pm$ 0.4	—	0.42 $\pm$ 0.1
25	β -白菖烯	1559	MS, RI	—	—	—	0.41 $\pm$ 0.4
26	α -律草烯	1675	MS, RI	—	0.4 $\pm$ 0.3	—	—
醛类							
27	乙醛	714	MS, RI	0.15 $\pm$ 0.1	—	0.46 $\pm$ 0.3	—
28	正己醛	1083	MS, RI	—	1.6 $\pm$ 0.2	—	1.2 $\pm$ 0.1
29	香茅醛	1479	MS, RI	1.0 $\pm$ 0.2	1.4 $\pm$ 0.3	2.3 $\pm$ 0.3	0.82 $\pm$ 0.3
30	橙花醛	1694	MS, RI	—	2.2 $\pm$ 0.4	—	2.5 $\pm$ 0.2
31	柠檬醛	1733	MS, RI	2.6 $\pm$ 0.3	4.5 $\pm$ 0.2	3.6 $\pm$ 0.1	5.5 $\pm$ 0.1
醇类							
32	α -松油醇	1694	MS, RI	2.6 $\pm$ 0.5	—	11.0 $\pm$ 0.4	—
33	芳樟醇	1553	MS, RI	0.92 $\pm$ 0.3	3.8 $\pm$ 0.5	4.1 $\pm$ 0.2	3.9 $\pm$ 0.3
34	香叶醇	1847	MS, RI	2.5 $\pm$ 0.2	7.6 $\pm$ 0.3	12.0 $\pm$ 0.3	14.0 $\pm$ 0.4
35	橙花醇	1811	MS, RI	0.93 $\pm$ 0.3	7.9 $\pm$ 0.4	10.0 $\pm$ 0.1	12.0 $\pm$ 0.3
36	正己醇	1387	MS, RI	—	1.7 $\pm$ 0.3	—	3.4 $\pm$ 0.2
37	反-2-己烯醇	1410	MS, RI	—	0.51 $\pm$ 0.4	—	0.63 $\pm$ 0.3
38	叶醇	1389	MS, RI	—	3.5 $\pm$ 0.2	—	6.7 $\pm$ 0.3
39	香茅醇	1420	MS, RI	1.6 $\pm$ 0.3	2.4 $\pm$ 0.3	5.3 $\pm$ 0.2	4.1 $\pm$ 0.3
烷烃类							
40	对伞花烃	1272	MS, RI	6.8 $\pm$ 0.1	8.0 $\pm$ 0.3	12.0 $\pm$ 0.2	4.2 $\pm$ 0.2
41	4-异丙基苯基甲	1452	MS, RI	0.34 $\pm$ 0.2	0.25 $\pm$ 0.1	0.31 $\pm$ 0.3	0.13 $\pm$ 0.1
酯类							
42	乙酸甲酯	827	MS, RI	—	0.21 $\pm$ 0.2	—	0.3 $\pm$ 0.3
43	乙酸乙酯	884	MS, RI	—	1.2 $\pm$ 0.4	—	0.42 $\pm$ 0.2
44	乙酸香叶酯	1765	MS, RI	—	—	—	0.53 $\pm$ 0.4
45	辛酸乙酯	1429	MS, RI	0.2 $\pm$ 0.2	—	0.30 $\pm$ 0.3	—
酮类							
46	甲基庚烯酮	1343	MS, RI	—	1.6 $\pm$ 0.2	—	4.5 $\pm$ 0.1
47	β -紫罗兰酮	1693	MS, RI	—	0.31 $\pm$ 0.3	—	0.4 $\pm$ 0.3

注: RI. HP-INNOWAX柱的Kováts保留指数。鉴定方法: MS为比对Wiley数据库和NIST数据库质谱鉴定, RI为与文献中的RI比对鉴定; —未检测到。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

初步鉴定新鲜金佛手的特征香气物质是以柠檬烯、 γ -松油烯和蒾烯为主的,具有明显柠檬柑橘香气特征的萜烯类化合物。金佛手中还有如月桂烯、石竹烯、异松油烯、柠檬醛、香茅醇、橙花醇、芳樟醇等具有木青气息和花香的化合物。还不乏如香柠檬烯、大根香叶烯、没药烯、侧柏烯和对伞花烃这样的具有香柠檬和树脂特征香气的物质。而HS-SPME和P&T 2种萃取方法能形成互补,HS-SPME对金佛手中的萜烯类物质萃取效果更好,P&T则可以更有效地萃取出醇类和醛类等其他种类的物质。实验证明2种方法在检测新鲜果蔬香气的实验中应更多的被共同使用。

2.2 GC-MS和GC $\times$ GC-qMS测定结果比较

表 2 HS-SPME萃取金佛手香气物质通过GC $\times$ GC-qMS的检测结果
Table 2 Identification of volatile compounds extracted by HS-SPME from JFC by GC $\times$ GC-qMS

编号	化合物名称	金佛手肉				化合物名称	金佛手皮			
		一维保留时间/min	二维保留时间/s	正相似度	反相似度		一维保留时间/min	二维保留时间/s	正相似度	反相似度
1	α -侧柏烯	3.53	1.26	879	900	α -侧柏烯	4.73	10.5	863	873
2	α -蒾烯	3.8	2.58	892	910	α -蒾烯	4.87	3.24	883	915
3	蒾烯	4.87	5.62	885	936	蒾烯	5.67	3.94	819	909
4	β -蒾烯	5.4	3.22	887	898	β -蒾烯	6.6	6.0	810	885
5	月桂烯	7.13	5.6	868	871	月桂烯	9.13	1.58	812	859
6	α -松油烯	7.67	2.86	777	870	甲酸芳樟酯	9.27	7.88	814	875
7	桉油烯	9.13	2.9	897	921	桉油烯	10.33	0.42	836	843
8	L-柠檬烯	11.53	1.06	873	905	L-柠檬烯	11.13	0.84	877	855
9	D-柠檬烯	12.47	6.94	896	920	D-柠檬烯	12.47	4.16	873	852
10	γ -松油烯	13.0	4.8	824	836	β -松油烯	15.0	4.16	832	890
11	对伞花烃	13.13	7.9	804	807	对伞花烃	13.53	5.1	785	886
12	3-萜烯	14.6	3.0	846	872	3-萜烯	15.0	1.6	827	892
13	三环萜	14.6	1.24	809	834	γ -松油烯	15.0	7.54	814	829
14	异松油烯	14.87	9.42	829	835	异松油烯	15.27	7.1	778	862
15	2-萜烯	15.0	7.3	861	899	2-萜烯	15.4	0.58	763	871
16	乙酸	15.8	1.88	783	839	(Z)-别罗勒烯	17.4	7.06	767	886
17	壬醛	16.73	3.62	763	866	(E,E)-别罗勒烯	17.4	5.98	805	912
18	(Z)-别罗勒烯	17.4	6.46	876	921	γ -吡喃酮	17.8	5.64	761	903
19	(E,E)-别罗勒烯	17.53	3.54	757	871	β -吡喃酮	17.93	3.66	755	853
20	β -吡喃酮	17.8	3.98	850	879	波斯菊萜	18.33	2.56	778	918
21	香茅醛	19.27	7.6	881	908	香茅醛	19.4	0.98	782	877
22	cis- β -松油醇	20.07	4.54	771	909	氟甲萜酮	19.4	8.04	760	760
23	芳樟醇	20.33	3.96	851	898	芳樟醇	20.47	8.06	869	898
24	4-松油烯醇	22.33	8.16	752	839	4-松油烯醇	22.6	5.28	773	879
25	反-2-十二烯	24.47	7.38	763	847	(-)- α -松油醇	25.53	5.52	750	823
26	甲基壬基甲酮	24.73	5.6	831	894	(+)- α -松油醇	25.53	5.26	806	864
27	α -香柠檬烯	24.87	2.56	804	901	柠檬醛	27.27	3.5	814	916
28	(+)- α -松油醇	25.53	6.58	832	869	石竹烯	28.07	8.34	810	936
29	柠檬醛	27.27	4.84	857	929	香茅醇	28.2	3.42	843	885
30	石竹烯	27.93	9.92	837	949	(E)- β -金合欢烯	28.2	0.8	790	911
31	香茅醇	28.2	4.58	873	900	乙酸橙花酯	28.87	3.5	812	868
32	橙花醇	29.0	10.58	848	894	β -香柠檬烯	29.13	2.2	785	927
33	β -檀香烯	29.8	7.2	777	888	α -香柠檬烯	29.13	6.52	761	781
34	香叶醇	30.6	9.46	870	889	(Z)- β -檀香萜醇	29.93	5.8	739	894
35	大根香叶烯	30.73	3.82	863	940	香叶醇	30.6	8.6	852	886
36	β -雪松烯	31.0	5.6	779	899	香松烯	30.6	4.22	759	859
37	β -香柠檬烯	31.0	5.76	762	909	大根香叶烯	30.73	2.96	821	822
38	β -没药烯	32.47	6.36	848	881	β -没药烯	32.33	13.54	853	888
39	α -紫穗槐烯	33.27	9.18	769	809	毕澄茄烯	32.73	2.58	776	898
40	β -紫罗兰酮	34.73	4.16	796	908	柠檬烯二醇	43.13	5.24	699	805
41	香芹酚	40.73	6.4	759	838					
42	百里香酚	41.4	6.28	769	838					
43	柠檬烯二醇	43.13	6.22	838	850					

采用与GC-MS相同的HS-SPME条件对金佛手肉和金佛手皮提取香气化合物,用GC×GC-qMS分离鉴定金佛手的香气物质,对二维点阵图逐点定性每一个检出物,如表2所示,从金佛手肉和金佛手皮中分别检测到43种和40种正反相似度均大于750的物质。从金佛手肉中检测到25种萜烯类物质、4种醛类物质、8种醇类物质、1种烷烃类物质、1种酸类物质、2种酮类物质、2种酚类物质。与GC-MS的检测结果相符,主要成分是萜烯类物质,比GC-MS的检测结果(使用HS-SPME萃取)多11种物质,还检测到了GC-MS没有检测到的酚类和酸类物质。此外还检测到如对伞花烃和β-紫罗兰酮通过P&T法提取到的物质,这可能是因为GC×GC-qMS的分离能力强,仪器的检出限更低,灵敏度更高。

从金佛手皮中检测到26种萜烯类物质、2种醛类物质、8种醇类物质、2种酯类物质、1种烷烃类物质、1种酮类物质。金佛手肉和金佛手皮中都检测到的物质有25种(α-蒎烯、β-蒎烯、月桂烯、石竹烯、L-柠檬烯、D-柠檬烯、γ-松油烯、α-侧柏烯、异松油烯、蒎烯、别罗勒烯、香柠檬烯、大根香叶烯、柠檬醛、香茅醛、芳樟醇、香茅醇、香叶醇、β-没药烯、枞油烯、4-松油烯醇、柠檬烯二醇和对伞花烃等)。与GC-MS结果比较发现共有19种物质被反复多次检测出来,如表3所示。这些物质在所有实验中均被检测到,在GC-MS检测结果中含量高达(96±3)%,在GC×GC-qMS检测结果中正反相似度超过800。

表3 GC-MS和GC×GC-qMS共同检测到的物质			
Table 3 Volatile compounds detected by both GC-MS and GC×GC-qMS			
编号	化合物名称	香气描述	CAS号
1	α-蒎烯	新鲜樟脑、木香	80-56-8
2	γ-松油烯	木香、柠檬香气	7785-70-8
3	石竹烯	木香、丁香	87-44-5
4	月桂烯	胡椒香、辛香	123-35-3
5	β-蒎烯	干木气息、树脂样气息	127-91-3
6	柠檬烯	柑橘香、药草香	138-86-3
7	β-没药烯	树脂香气	495-61-4
8	异松油烯	新鲜木香、柑橘香	586-62-9
9	α-香柠檬烯	木香、温和的茶香	17699-05-7
10	大根香叶烯	木香	23986-74-5
11	α-侧柏烯		3917-48-4
12	柠檬醛	明显的柠檬香甜感	5392-40-5
13	香茅醛	花香、柑橘香	106-23-0
14	芳樟醇	玫瑰木青气息	78-70-6
15	香茅醇	玫瑰花香	106-22-9
16	α-松油醇	柑橘、紫丁香花香、木香	98-55-5
17	香叶醇	玫瑰花香、果香	106-24-1
18	对伞花烃	新鲜得柑橘气息、木香	99-87-6
19	别罗勒烯	甜蜜的花香,辛辣的草药	673-84-7

注:香气描述参考文献[29],表4同。

由上可知,相同预处理条件下,GC×GC-qMS至少能比GC-MS多检测鉴定出7种有效物质,2种色谱柱能共同检测出的物质有19种(柠檬烯、α-蒎烯、β-蒎烯、

月桂烯、柠檬醛、香茅醛、芳樟醇和香叶醇等)。利用GC×GC-qMS强大的定性能力对GC-MS的分析结果进行验证核实,能准确检测出金佛手中的香气物质,排除因一维峰的拖尾现象导致的误差,提高分析研究的准确性。因此GC×GC-qMS应被更普遍地运用到香气分析中,与GC-MS组合应用能减少检测误差。

2.3 关键挥发性香气物质的鉴定

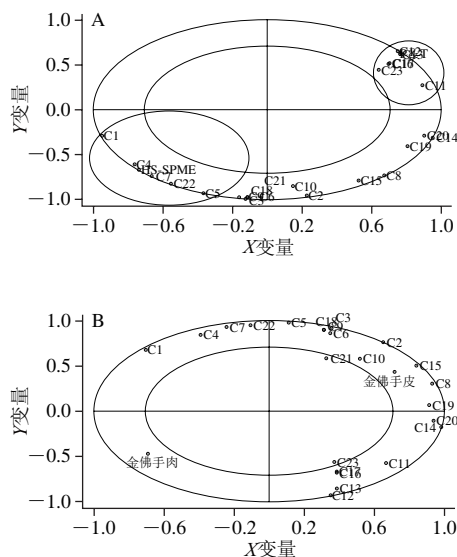
仅通过香气物质的含量无法准确反映其对于金佛手香气的贡献程度,因此引入OAV探究金佛手中关键的挥发性香气物质。OAV大于1的物质对香气贡献明显,且OAV越大对香气贡献程度越高,但OAV小于1的物质并非对香气不起作用,这些物质往往起协香作用^[30]。

表4 金佛手中挥发性物质的OAV (OAV>1)
Table 4 OAVs of volatile compounds identified in the pulp and skin of finger citron fruits

化合物	代码	阈值/ (mg/kg)	香气描述	金佛手肉OAV		金佛手皮OAV	
				HS-SPME	P&T	HS-SPME	P&T
萜烯类							
α-蒎烯	C1	0.19	新鲜樟脑、木香	25.26	7.37	16.84	5.79
石竹烯	C2	0.41	木香、丁香	20.73	18.54	72.93	38.29
月桂烯	C3	0.1	胡椒香、辛香	83.26	66.32	132.19	74.01
β-蒎烯	C4	1.5	干木气息、树脂样气息	57.13	24.20	56.80	17.53
柠檬烯	C5	0.2	柑橘香、药草香	2 553.52	1 775.23	3 337.43	2 025.10
γ-松油烯	C6	2.1	木香、柠檬香气	110.76	94.68	185.84	88.88
β-水芹烯	C7	0.5	薄荷、松脂气息	13.58		16.64	
异松油烯	C8	0.041	新鲜木香、柑橘香	293.61	773.22	1207.44	773.32
醛类							
乙醛	C9	0.01	刺鼻的果香	9.88		39.96	
香茅醛	C10	0.006	花香、柑橘香	166.67	233.33	383.56	133.89
柠檬醛	C11	0.04	明显的柠檬香甜感	64.95	113.70	90.25	139.78
己醛	C12	0.009 1	青香		175.82		131.86
橙花醛	C13	0.68	柑橘甜、似柠檬皮		3.24		3.68
醇类							
芳樟醇	C14	0.001	玫瑰木青气息	955.00	3 865.00	4 107.00	3 946.00
香茅醇	C15	0.04	玫瑰花香	41.33	59.43	133.00	103.83
叶醇	C16	0.91	青草香气		3.87		7.42
己醇	C17	2	空灵的果香、青香		0.85		1.71
α-松油醇	C18	5	柑橘、紫丁香花香、木香	0.52		2.12	
香叶醇	C19	0.01	玫瑰花香、果香	248.98	761.43	1 198.87	1 368.20
橙花醇	C20	0.68	柑橘、木兰香气	1.43	11.71	15.08	18.35
烷烃类							
对伞花烃	C21	2.1	新鲜得柑橘气息、木香	3.24	3.81	5.62	2.01
酯类							
辛酸乙酯	C22	0.015	香蕉果香、似白兰地的酒香	13.33		20.20	
酮类							
甲基庚烯酮	C23	0.16	柑橘、青香、霉味、柠檬草		10.12		28.44

对GC-MS的检测结果计算OAV,如表4所示,共有23种物质OAV大于1,被认为是金佛手香气的关键组分,其中有18种物质OAV大于10,有10种物质OAV大于100,而柠檬烯、异松油烯、芳樟醇的OAV超过1 000。这些物质可被认为是金佛手中必不可少的香气物质。这些物质的香气特征可分为2大类,一类是以柠檬烯、柠檬

醛、橙花醛和甲基庚烯酮为代表的具有明显柠檬特征的果香和青香；另一类是以 α -蒎烯、 β -蒎烯、 γ -松油烯、异松油烯、芳樟醇、香茅醛为代表的具有强烈萜类物质特征的木青气息、花香和药草香气。可知金佛手的主体香韵为柑橘气息、木青气息、药草香和果香。



$C_1 \sim C_{23}$ 表示23个OAV大于1的香气物质。

图1 2种萃取方法(A)及果皮、果肉(B)与23种香气物质(OAV>1)之间的相关性

Fig. 1 An overview of the variation found in the mean data of 23 aroma compounds with odor activity values (OAVs) greater than 1 from the partial least squares regression (PLSR) correlation loading plots for two extraction methods (A) and the flesh and peel of finger citron fruits (B)

为进一步明确2种萃取方法对金佛手香气物质的萃取效果，以及金佛手肉和金佛手皮间香气组分的差异，采用PLSR模型对实验结果进行相关性分析。

以HS-SPME和P&T检测到的23种OAV大于1的香气物质作为X变量，以2种萃取方法作为Y变量，生成PLSR的相关性载荷图如图1A所示。2个椭圆分别表示50%（小）和100%（大）的方差贡献率，位于2个椭圆之间的物质均与2种萃取方法具有良好的相关性。由图1A可知，X变量的贡献率为98%，Y变量的贡献率为99%，表明该PLSR模型能较好地解释样本提供的信息。图1的右上角在“P&T”周围的物质有正己醛（C13）、橙花醛（C12）、叶醇（C16）、正辛醇（C17）、甲基庚烯酮（C23）、柠檬醛（C11），表明采用P&T法能有效提取出此类低沸点化合物。而在左下角“HS-SPME”周围的物质有 β -蒎烯（C4）、柠檬烯（C5）、 β -水芹烯（C7）、 α -蒎烯（C1）、辛酸乙酯（C22）、月桂烯（C3）、 α -松油醇（C18）、 γ -松油烯（C6），表明HS-SPME能更有效地提取出金佛手中的萜烯类物质。

以金佛手肉和金佛手皮中检测到的23种OAV大于1的物质作为X变量，以金佛手肉和金佛手皮作为Y变量，生成PLSR的相关性载荷图如图1B所示。2个椭圆分别表示50%（小）和100%（大）的方差贡献率，位于2个椭圆之间的风味物质均与金佛手肉和金佛手皮具有良好的相关性。由图1B可知，X变量的贡献率为98%和Y变量的贡献率为71%，表明该PLSR模型能较好的解释样本提供的信息。香气物质全都分散在“金佛手皮”一侧可能说明金佛手皮的香气强度更大，此外带有明显木青气息的异松油烯（C8）、石竹烯（C2）和具有玫瑰特征花香的香茅醇（C15）与金佛手皮相关性最高，表明这些物质是区别金佛手皮与肉的香气特征的关键。

综上所述，通过引用OAV确定对于金佛手香气贡献最大的挥发性化合物有23种，依次为 α -蒎烯、 β -蒎烯、柠檬烯、反式石竹烯、异松油烯、 γ -松油烯、 β -水芹烯、月桂烯、香茅醛、柠檬醛、正己醛、橙花醛、乙醛、芳樟醇、香茅醇、香叶醇、叶醇、 α -松油醇、橙花醇、正己醇、对伞花烃、辛酸乙酯和甲基庚烯酮。主要是萜烯类物质、醛类物质和醇类物质，其中柠檬烯、异松油烯和芳樟醇的OAV超过1 000。通过建立PLSR模型得到：HS-SPME可更有效地萃取出金佛手中的萜烯类物质而P&T能够萃取出金佛手中低沸点的醇类和醛类物质。其次金佛手肉的香气强度大于金佛手皮，且区别于金佛手肉的关键香气组分是异松油烯、香茅醇、石竹烯。确定了金佛手的香气特征为具有较强烈木青气息和药草香的似柠檬的气息。

3 结论

HS-SPME和P&T 2种提取方法能互相弥补，HS-SPME能更有效地萃取出金佛手中的萜烯类物质，P&T则可以更有效地检测到金佛手中的醇类和醛类等低沸点物质，2种方法应被共同使用到新鲜果蔬香气的研究中。此外相同预处理条件下用GC×GC-qMS至少比GC-MS多检测鉴定出7种有效物质，2种色谱柱能够共同检测出的物质有19种。利用GC×GC-qMS强大的分离能力可排除一些因一维峰的拖尾现象导致的误差来提高分析研究的准确性，GC×GC-qMS与GC-MS组合应用能有效减少检测误差。通过引用OAV并建立PLSR模型明确了对于金佛手香气贡献较大的香气物质为 α -蒎烯、 β -蒎烯、柠檬烯、石竹烯、异松油烯、 γ -松油烯、 β -水芹烯、月桂烯、香茅醛、柠檬醛、己醛、橙花醛、乙醛、芳樟醇、香茅醇、香叶醇、叶醇、 α -松油醇、橙花醇、己醇、对伞花烃、辛酸乙酯和甲基庚烯酮，并确定金佛手的香气特征为具有较强烈木青气息和药草香的似柠檬的柑橘气息，其中

OAV大于1 000的柠檬烯、异松油烯和芳樟醇是重中之重。其次金佛手皮的香气强度高于金佛手肉,且金佛手皮中区别于金佛手肉的关键香气组分是异松油烯、香茅醇、石竹烯。

参考文献:

- [1] 杨慧,周爱梅,林敏浩,等.佛手挥发精油提取及其药理研究进展[J].食品安全质量检测学报,2013(5): 1347-1352.
- [2] 严玮.佛手化学成分和药理作用研究进展[J].实用中医药杂志,2015(8): 788-790. DOI:10.3969/j.issn.1004-2814.2015.08.079.
- [3] HOSNI K, ZAHED N, CHRIF R, et al. Composition of peel essential oils from four selected Tunisian *Citrus* species: evidence for the genotypic influence[J]. Food Chemistry, 2011, 123(4): 1098-1104. DOI:10.1016/j.foodchem.2010.05.068.
- [4] 钟艳梅,田庆龙,肖海文,等.不同产地佛手药材的化学成分比较研究[J].中南药学,2014(1): 63-66. DOI:10.7539/j.issn.1672-2981.2014.01.014.
- [5] BAKKALI F, AVERBECK S, AVERBECK D, et al. Biological effects of essential oils: a review[J]. Food & Chemical Toxicology an International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association, 2008, 46(2): 446-475. DOI:10.1016/j.fct.2007.09.106.
- [6] NJOROGI S M, UKEDA H, KUSUNOSE H, et al. Volatile components of the essential oils from Kabosu, Daidai, and Yuko, Japanese sour citrus fruits[J]. Flavour & Fragrance Journal, 2010, 9(6): 289-297. DOI:10.1002/ffj.2730090603.
- [7] DENG G, CRAFT J D, STEINBERG K M, et al. Influence of different isolation methods on chemical composition and bioactivities of the fruit peel oil of *Citrus medica* L. var. *sarcodactylis* (Noot.) Swingle[J]. Medicines, 2017, 4(1): 1-11. DOI:10.3390/medicines4010001.
- [8] SHU C K, WALRADT J P, TAYLOR W I. Improved method for bergapten determination by high-performance liquid chromatography[J]. Journal of Chromatography A, 1975, 106(2): 271-282. DOI:10.1016/S0021-9673(00)93835-4.
- [9] DE JAGER L S, PERFETTI G A, DIACHENKO G W. Comparison of membrane assisted solvent extraction, stir bar sorptive extraction, and solid phase microextraction in analysis of tetramine in food[J]. Journal of Separation Science, 2009, 32(7): 1081-1086. DOI:10.1002/jssc.200800576.
- [10] GAO Q, SHA Y, WU D, et al. Analysis of the volatile components emitted from cut tobacco processing by gas chromatography/mass spectrometry thermal desorption system[J]. Talanta, 2012, 101(22): 198-202. DOI:10.1016/j.talanta.2012.08.050.
- [11] HARSHMAN S W, DERSHEM V L, FAN M, et al. The stability of tenax TA thermal desorption tubes in simulated field conditions on the HAPSITE® ER[J]. International Journal of Environmental Analytical Chemistry, 2015, 95(11): 1014-1029. DOI:10.1080/03067319.2015.1077520.
- [12] 王辉,赵之骏.全二维气相色谱/质谱法分离分析国产玫瑰精油成分的研究[J].香料香精化妆品,2016(4): 11-16. DOI:10.3969/j.issn.1000-4475.2016.04.004.
- [13] BROKL M, BISHOP L, WRIGHT C, et al. Enhanced multivariate analysis of mainstream tobacco smoke particulate phase by HS-SPME-GC×GC-TOFMS[C]//International Symposium on Hyphenated Techniques in Chromatography and Separation Technology Htc. 2014.
- [14] O'REILLY K T, MOHLER R E, ZEMO D A, et al. Identification of ester metabolites from petroleum hydrocarbon biodegradation in groundwater using GC×GC-TOFMS [J]. Environmental Toxicology & Chemistry, 2015, 34(9): 1959-1961. DOI:10.1002/etc.3022.
- [15] 徐占成,陈勇,王双.利用SBSE和全二维气质联用(GC×GC-TOFMS)新技术解析白酒香味物质的研究[J].酿酒科技,2012(7): 41-42; 46. DOI:10.13746/j.njkj.2012.07.018.
- [16] BAHARUM S N, BUNAWAN H, GHANI M A, et al. Analysis of the chemical composition of the essential oil of *Polygonum minus* Huds. using two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry (GC-TOF MS)[J]. Molecules, 2010, 15(10): 7006-7015. DOI:10.3390/molecules15107006.
- [17] JIN X, XU L, SHI X, et al. Comparative studies on volatile oils in fruits of four varieties *Citrus medica* var. *sarcodactylis*[J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2002, 37(10): 737-739.
- [18] YANG J, GAO H, CHU G, et al. Characterization of volatile constituents and odorous compounds in essential oil of finger citron (*Citrus medica* L. var. *sarcodactylis* Swingle) by GC-MS and GC-O[J]. 食品科学, 2015, 26(4): 777-796. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201520037.
- [19] CALIARI V, BURIN V M, ROSIER J P, et al. Aromatic profile of Brazilian sparkling wines produced with classical and innovative grape varieties[J]. Food Research International, 2014, 62(8): 965-973. DOI:10.1016/j.foodres.2014.05.013.
- [20] GEMERT L J V. Compilations of odour threshold values in air, water and other media[J]. Oliemans Punter & Partners BV, 2003.
- [21] KOVATS E S. Gas chromatographic characterization of organic substances in the retention index system[J]. Advances in Chromatography, 1965, 1: 229-247.
- [22] XIAO Z, YU D, NIU Y, et al. Characterization of aroma compounds of Chinese famous liquors by gas chromatography-mass spectrometry and flash GC electronic-nose[J]. Journal of Chromatography B Analytical Technologies in the Biomedical & Life Sciences, 2013, 945/945/946C(2): 92-100. DOI:10.1016/j.jchromb.2013.11.032.
- [23] VENTURINI N, CURK F, DESJOBERT J M, et al. Chemotaxonomic investigations of peel and petitgrain essential oils from 17 citron cultivars[J]. Chemistry & Biodiversity, 2010, 7(3): 736-751. DOI:10.1002/cbdv.200900028.
- [24] SHIOTA H. Volatile components in the peel oil from fingered citron (*Citrus medica* L. var. *sarcodactylis* Swingle)[J]. Flavour & Fragrance Journal, 1990, 5(1): 33-37. DOI:10.1002/ffj.2730050106.
- [25] DÜNG N X, PHA N M, L V N, et al. Chemical investigation of the fruit peel oil of *Citrus medica* L. var. *sarcodactylis* (Noot.) Swingle from Vietnam[J]. Journal of Essential Oil Research, 1996, 8(1): 15-18. DOI:10.1080/10412905.1996.9700547.
- [26] ZHAO X J. Comparison of extraction methods for volatile oil from *Citrus medica* L. var. *sarcodactylis* (Noot) Swingle[J]. 食品科学, 2007, 28(4): 167-170.
- [27] PENG C H, KER Y B, WENG C F. Insulin secretagogue bioactivity of finger citron fruit (*Citrus medica* L. var. *sarcodactylis* Hort, Rutaceae)[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2009, 57(19): 8812-8819. DOI:10.1021/jf902143x.
- [28] WU Z, LI H, YANG Y, et al. Variation in the components and antioxidant activity of *Citrus medica* L. var. *sarcodactylis* essential oils at different stages of maturity[J]. Industrial Crops & Products, 2013, 46(3): 311-316. DOI:10.1016/j.indcrop.2013.02.015.
- [29] SAFC. Flavors & fragrances[M]. Madrid, Spain: European edcatalogue SAFC Specialties, 2012.
- [30] HE C C, SU K R, LIU M Y, et al. Identification of aroma-active compounds in watermelon juice by AEDA and OAV calculation[J]. Modern Food Science & Technology, 2014, 30(7): 279-285.