

树莓汁中键合态香气物质的酸解

任婧楠, 荣 茂, 彭 勋, 金 瑶, 潘思轶, 王可兴, 范 刚*

(环境食品学教育部重点实验室, 华中农业大学食品科学技术学院, 湖北 武汉 430070)

摘 要: 采用Amberlite XAD-2树脂吸附洗脱分离树莓汁中的键合态香气物质, 对分离得到的键合态香气物质在4种条件下进行的酸法水解释放研究, 并采用气相色谱-质谱联用法(GC-MS)对水解后的键合态香气物质进行检测分析, 以明确不同酸水解条件对树莓汁中键合态香气物质的水解效果。结果表明: 4种不同水解条件得到的键合态香气物质共有30种, 主要为脂肪醇类和萜烯类物质, 其中苯甲酸含量最高。不同酸水解条件下得到的键合态香气物质存在明显的差异, 在pH1.0条件下40℃水解4d所检出的香气物质种类最多, 达11种, 总含量为198.5μg/L。

关键词: 树莓汁; 键合态香气物质; 酸解

Acidic Hydrolysis of Bound Aroma Compounds in Raspberry Juice

REN Jing-nan, RONG Mao, PENG Xun, JIN Yao, PAN Si-yi, WANG Ke-xing, FAN Gang*

(Key Laboratory of Environment Correlative Dietology, Ministry of Education, College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: Bound aroma compounds from raspberry juice were separated by Amberlite XAD-2 column chromatography and analyzed by GC-MS after acidic hydrolysis at four different conditions. The purpose of this study was to provide a useful guidance for aroma enhancement of raspberry juice. A total of 30 bound aroma compounds were identified in four different hydrolysates, mainly including fatty alcohols and terpenes. Benzoic acid was the most abundant compound. Significant differences were found in the composition of bound aroma compounds among the different hydrolysates. The most abundant bound compounds were obtained at the condition of pH 1.0 and 40 °C for 4 days, and 11 aroma compounds were detected with total concentration of 198.5 μg/L.

Key words: raspberry juice; bound aroma compounds; acidic hydrolysis

中图分类号: TS255.44

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)13-0101-04

doi:10.7506/spkx1002-6630-201313022

糖苷键合态香气物质(glycosidically bound aroma compounds)是指香气物质与植物中的糖类物质通过糖苷键结合后以糖苷的形式存在的香气前体物质。由于其与糖类物质结合后, 不具有挥发性, 因此不能被人们嗅闻到。20世纪60年代, Francis等^[1]率先对玫瑰花瓣中单萜醇与糖苷结合物质进行了研究, 开创了糖苷结合风味物质这一崭新的研究领域。

目前, 国内外研究学者已经陆续从多种水果中发现了糖苷键合态香气物质, 并对其结构、含量、水解方式、加工及贮藏过程中的变化、抗氧化及抗病虫害等进行了较为广泛而深入的研究。通过适当的水解方式和条件, 可以将水果中的糖苷键合态香气物质释放出来, 从而增强其整体香气品质。但对于树莓汁中的糖苷键合态

香气物质的研究却鲜有报道, 只有Pabst等^[2]研究了树莓果实中的键合态香气物质, 他们采用Amberlite XAD-2树脂吸附洗脱分离的方法从树莓果实中分离得到以糖苷键合态形式存在的4-氧代-β-紫罗兰醇和芳樟醇两种物质。而有关黑莓中的键合态香气物质的研究则稍多些, Du等^[3]采用C₁₈-反相吸附的方法从黑莓中提取到了糖苷键合态香气物质前体, 结合SBSE-GC/MS萃取并分析了经酶水解作用后释放出的游离态香气物质, 研究结果显示, 含量最丰富的是醇类物质, 其次是莽草酸的衍生物; 还检测到配糖体有呋喃酮和微量的萜烯类物质, 经比较得到与游离态香气物质有着相似的组成, 且呋喃酮配体一直稳定的存在于亲代和子代黑莓中。

键合态香气物质是由糖基和带羟基的香气配基以糖

收稿日期: 2012-03-26

基金项目: 湖北省科技计划研究与开发项目(2011BBB045); 中央高校基本科研业务费专项(2013PY097; 2011PY144)

作者简介: 任婧楠(1986—), 女, 硕士研究生, 研究方向为风味化学。E-mail: 79950429@qq.com

*通信作者: 范刚(1982—), 男, 副教授, 博士, 研究方向为风味化学。E-mail: fangang@mail.hzau.edu.cn

苷的形式结合而成的,因此,可以通过酸水解和酶水解的方式将糖苷键切断,解离出香气物质。酸水解是一种简单可行的水解方式,很多水果及其加工制品,比如果汁、果酒等中的键合态香气物质会在其自身弱酸性条件下自发地水解^[4-5]。不同酸水解条件下得到的键合态香气物质可能不同,Boulanger^[6]、Williams^[7]等曾对水果中的键合态香气物质进行了酸解释放研究,并发现在不同的酸水解条件下得到的键合态香气物质存在显著差异。

本研究以树莓为实验对象,采用Amberlite XAD-2树脂吸附洗脱分离树莓汁中的游离态和键合态香气物质,对得到的键合态香气物质采用4种不同的酸解条件进行水解释放,并采用GC-MS分析方法对水解得到的键合态香气物质进行了分析鉴定,比较不同酸解条件对键合态香气物质的影响,以为树莓汁及其加工制品的增香调控提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

成熟赫尔特兹品种树莓果实采自湖北省天门市湖北金莓科技发展有限公司树莓种植园,树莓果实采摘后贮藏在一18℃的冰柜中待用。实验时从冰柜中取出树莓果实,常温下解冻,榨汁,接着4℃、10000×g离心分离20min,清汁备用。

Amberlite XAD-2 (20~60目) 美国Supelco公司;环己酮(色谱纯) 德国Fluka公司;C₆~C₂₀正构烷烃(色谱纯) 美国Sigma公司;所用试剂乙醚、戊烷、甲醇均为分析纯。

1.2 仪器与设备

Agilent 6890N-5975B型气相色谱-气质联用仪 美国安捷伦科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 Amberlite XAD-2树脂的预处理

称60g Amberlite XAD-2树脂在索氏抽提器中分别用戊烷、乙酸乙酯和甲醇各回流处理10h,然后置于甲醇中备用。使用时将洗净的Amberlite XAD-2树脂以甲醇为溶剂湿法装柱,以800mL蒸馏水洗柱(10mL/min)以除去甲醇后即可使用^[4]。

1.3.2 树莓汁中键合态香气物质的提取分离

将树莓清汁以约3mL/min的流速流经处理好的Amberlite XAD-2树脂柱(50cm×1cm),接着用500mL的蒸馏水洗柱以除去果汁中的糖、酸等水溶性物质。然后用350mL乙醚-戊烷(体积比1:1)洗柱以去除游离态香气物质,接着用350mL甲醇洗脱吸附在柱上的键合态香气物质,收集甲醇部分,在旋转蒸发器上减压浓缩(水浴温度为35℃)至干,用20mL柠檬酸-Na₂HPO₄缓冲液(0.06mol/L, pH 5.0)

溶解,再用100mL乙醚-戊烷(体积比1:1)分3次萃取以除去可能存在的游离态香气物质,剩下的水相即为键合态香气组分。

1.3.3 树莓汁中键合态香气物质的酸法水解研究

按照酸解温度和pH值的不同,将树莓汁中键合态香气物质的酸解条件设置为剧烈和温和两组条件,剧烈酸解条件为:将1.3.2节的水相部分,用1.0mol/L的HCl调整pH1.0,按此操作准备两份样品,其中一份样品置于沸水浴中煮沸水解30min,另一份样品置于40℃水浴锅内水解4d;温和条件为:将1.3.2节的水相部分,用1.0mol/L的HCl调整pH2.0,按此操作准备两份样品,然后置于40℃水浴锅内分别水解2d和4d。待水解完毕,将所有水解后的样品用1.0mol/L的NaOH调pH值至中性,再用10mL乙醚-戊烷(体积比1:1)分3次萃取酸解液,N₂浓缩至1.0mL,加入50μL环己酮(0.946mg/mL无水乙醇)作为内标物,供GC-MS分析。每个实验重复平行2次。

1.3.4 GC-MS分析

Agilent 6890N型气相色谱仪,气相色谱条件:毛细管柱为HP-5(30m×320μm, 0.25μm),程序升温,起始温度40℃,保持12min,以3℃/min升至108℃,保持2min,再以5℃/min升至250℃,保持5min,进样量为1.0μL,进样口温度250℃。

Agilent 5975B型质谱仪,质谱条件:离子源温度230℃,四极杆温度150℃,离子化方式EI,电子能量70eV,质量范围为45~550u。

1.3.5 香气物质的定性定量分析

定性分析采用气相色谱-质谱联用仪进行分析鉴定,运用NIST05谱库进行初步检索。利用C₆~C₂₀正构烷烃的保留时间计算出每种香气物质的保留指数,再结合保留指数进行比对,确认各个香气物质的化学组成。

定量分析采用内标法,内标物为环己酮(0.946mg/mL无水乙醇)。计算公式为:

$$\text{香气物质含量}(\mu\text{g/L}) = \frac{\text{香气物质峰面积} \times \text{内标物质量}(\mu\text{g})}{\text{内标物峰面积} \times \text{树莓汁样品体积/L}}$$

2 结果与分析

2.1 不同酸解条件下水解得到的树莓汁中的键合态香气物质

4种不同酸水解条件下得到的树莓汁中的键合态香气物质如表1所示。4种不同酸解条件下所释放出的键合态香气物质共有30种。所采用的树莓果实样品的总酸高达5.57%,树莓汁pH值为2.92,树莓汁中的键合态香气物质在其加工和贮藏过程中会发生自发的水解释放。通过添加HCl调节pH值至1.0和2.0,比较了不同酸解条件下,树莓汁中键合态香气物质的释放效果。从检测的结果上

表1 不同酸解条件下得到的树莓汁中的键合态香气物质
Table 1 Bound volatile compounds in raspberry juice hydrolyzed by acid at different conditions

化合物	保留 时间/min	保留 指数	含量/($\mu\text{g/L}$)			
			剧烈条件		温和条件	
			pH1.0(沸水浴30min)	pH1.0(40℃, 4d)	pH2.0(40℃, 2d)	pH2.0(40℃, 4d)
6-庚烯-3-醇(6-hepten-3-ol)	7.360	795	nd	1.1 $\pm$ 0.2(0.6%)	nd	nd
2-甲基-3-丁烯-2-醇(2-methyl-3-buten-2-ol)	9.852	855	nd	34.3 $\pm$ 2.7(17.3%)	nd	nd
2,2-二甲基-1-丁醇(2,2-dimethyl-1-butanol)	9.909	857	nd	41.2 $\pm$ 5.4(20.8%)	nd	nd
3-乙基-2-戊醇(3-ethyl-2-pentanol)	11.116	886	14.7 $\pm$ 5.3(0.3%)	nd	nd	nd
5-乙基-4-壬醇(5-ethyl-4-nonanol)	11.843	903	8.5 $\pm$ 4.2(0.2%)	nd	nd	nd
3,7,11-三甲基-3-十二醇(3,7,11-trimethyl-3-dodecanol)	13.411	936	nd	nd	113.4 $\pm$ 107.0(59.7%)	nd
2,3,4-三甲基-1-戊醇(2,3,4-trimethyl-1-pentanol)	13.697	942	21.7 $\pm$ 12.7(0.4%)	nd	nd	nd
3-羟基己酸乙酯(ethyl 3-hydroxyhexanoate)	16.815	1007	nd	nd	25.2 $\pm$ 14.3(13.3%)	nd
2-乙基丁酸(2-ethylbutyric acid)	18.749	1046	nd	nd	11.4 $\pm$ 10.8(6.0%)	nd
苯甲酸(benzoic acid)	26.051	1197	5422 $\pm$ 573(97.7%)	nd	nd	29.5 $\pm$ 20.1(14.0%)
2-十二醇(2-dodecanol)	34.662	1391	nd	nd	23.9 $\pm$ 6.1(12.6%)	nd
1-十一醇(1-undecanol)	34.668	1391	nd	1.4 $\pm$ 0.7(0.7%)	nd	nd
α , 4-二甲基苯甲醇(α ,4-dimethylbenzyl alcohol)	36.276	1431	3.2 $\pm$ 2.9(0.06%)	nd	nd	nd
肉豆蔻醇(1-tetradecanol)	38.553	1486	nd	nd	0.7 $\pm$ 0.5(0.4%)	nd
2-十三醇(2-tridecanol)	38.782	1492	nd	nd	nd	2.2 $\pm$ 1.8(1.0%)
2-十二醇(2-dodecanol)	42.673	1593	31.4 $\pm$ 21.3(0.6%)	nd	nd	nd
2-十四醇(2-tetradecanol)	43.571	1623	8.9 $\pm$ 1.4(0.2%)	nd	1.2 $\pm$ 0.5(0.6%)	nd
1-十六醇(1-hexadecanol)	45.151	1655	30.5 $\pm$ 26.4(0.5%)	nd	nd	nd
4-羟基- β -紫罗兰酮(4-hydroxy- β -ionone)	46.038	1690	nd	88.7 $\pm$ 9.8(44.7%)	nd	165.3 $\pm$ 111.2(78.4%)
薄荷醇(menthol)	46.873	1716	nd	1.4 $\pm$ 0.4(0.7%)	nd	nd
乙二醇月桂酸酯(2-(dodecyloxy)ethanol)	47.039	1721	nd	nd	9.4 $\pm$ 7.4(4.9%)	nd
2-十六醇(2-hexadecanol)	49.574	1805	nd	nd	1.8 $\pm$ 1.4(0.9%)	nd
2-己基-1-癸醇(2-hexyl-1-decanol)	50.650	1860	nd	nd	nd	4.8 $\pm$ 1.2(2.3%)
异胡薄荷醇(isopulegol)	50.890	1872	nd	1.0 $\pm$ 0.3(0.5%)	nd	nd
1-十五醇(1-pentadecanol)	51.410	1899	4.2 $\pm$ 2.5(0.1%)	3.3 $\pm$ 1.2(1.7%)	nd	nd
<i>p</i> -薄荷-1-烯-9-醇(<i>p</i> -menth-2-en-9-ol)	51.777	1921	nd	3.5 $\pm$ 1.3(1.8%)	nd	nd
异长叶醇(isolongifolol)	51.914	1929	nd	15.3 $\pm$ 5.6(7.7%)	3.1 $\pm$ 2.7(1.6%)	3.8 $\pm$ 0.6(1.8%)
<i>p</i> -薄荷-8(10)-烯-9-醇(<i>p</i> -menth-8(10)-en-9-ol)	52.046	1937	nd	7.3 $\pm$ 3.5(3.7%)	nd	nd
1-二十醇(1-eicosanol)	53.522	2017	6.4 $\pm$ 5.0(0.1%)	nd	nd	nd
异十三醇(isotridecanol)	54.283	2045	nd	nd	nd	5.3 $\pm$ 2.6(2.5%)

注：nd. 未检出；()中数据为相对含量。

看，不同酸解条件，所产生的键合态香气物质的种类存在很大差异。通过酸解释放出的键合态香气物质以脂肪醇类物质为主，其次为萜烯类物质，并有1种C₁₃降异戊二烯类物质和1种羟基酯类物质。

树莓汁中的键合态香气物质在pH1.0经沸水浴30min水解释放后，共得到10种物质，总含量为5551.5 $\mu\text{g/L}$ ，包括8种脂肪醇类物质和2种苯系物，其中苯甲酸含量最高，占总含量的97.7%，其次是2-十六醇(0.6%)，2-十六醇(0.5%)等。苯甲酸在黑莓中也被检出以糖苷键合态的形式存在，含量达960 $\mu\text{g/kg}$ ^[8]。

在pH1.0条件下，40℃水解4d共得到11种键合态香气物质，总含量为198.5 $\mu\text{g/L}$ ，包括5种萜烯类物质，5种脂肪醇类物质和1种C₁₃降异戊二烯类物质，其中4-羟基- β -紫罗兰酮含量最高，占总含量的45.0%，其次为2,2-二甲基-1-丁醇(21.0%)，2-甲基-3-丁烯-2-醇(17.0%)等。4-羟基- β -紫罗兰酮是检出的唯一一种C₁₃降异戊二烯类物质，这类物质是水果中很重要的一类糖苷香气前体，其异构体4-氧代- β -紫罗兰醇和3-羟基- β -紫罗兰酮分别在树莓和黑莓中也以键合态形式存在^[2,8]。萜烯类物质也是水果中重要的键合态香气物质，在此条件下共检出5种萜烯类物质，分别为薄荷醇、异胡薄荷醇、*p*-薄荷-1-烯-9-醇、异长叶醇及*p*-薄荷-8(10)-烯-9-醇。

在pH2.0条件下，40℃水解2d共得到9种键合态香气物质，总含量为190.1 $\mu\text{g/L}$ ，包括5种脂肪醇类物质，1种苯系物，1种萜烯类物质，1种羟基酯类物质和1种酸类物质，其中3,7,11-三甲基-3-十二醇含量最高，占总含量的59.7%，其次为3-羟基己酸乙酯(13.3%)、2-十二醇(12.6%)、2-乙基丁酸(6.0%)等。

在pH2.0条件下，40℃水解4d共得到6种键合态香气物质，总含量为210.9 $\mu\text{g/L}$ ，包括3种脂肪醇类物质，1种苯系物，1种萜烯类物质及1种C₁₃降异戊二烯类物质。其中4-羟基- β -紫罗兰酮含量最高，占总含量的78.4%，其次为苯甲酸(14.0%)、异十三醇(2.5%)、2-己基-1-癸醇(2.0%)等。

2.2 不同酸解条件下水解得到的键合态香气物质的分析比较

在pH1.0经沸水浴30min水解释放得到的键合态香气物质的含量是最多的，此条件也是所使用的4种酸解条件中最剧烈的，水解得到的产物以苯系物和脂肪醇为主，Ananthakumar等^[9]研究了采用酸解方式释放肉豆蔻中的键合态挥发性物质，他们将键合态组分离于1.0mol/L HCl中在80℃条件下水解1h，共检出4种键合态香气成分，包括2种苯系物，1种萜烯类物质和1种脂肪醇。Nonier等^[10]采用2.0mol/L三氟乙酸在120℃条件下酸解橡木中的键合态挥发性物质1h，并检出正、反-威士忌内酯，丁香酚，

巨豆三烯酮, 香兰素和丁香醛等6种键合态香气物质。而pH1.0条件下40℃水解4d所得到的键合态香气物质的种类是较多的, 这两种剧烈条件下水解得到的键合态香气物质的数量相差不大。在pH2.0条件下, 40℃水解4d所得到的键合态香气物质的种类是最少的, 随着水解pH值的升高, 水解得到的键合态香气物质种类呈下降趋势, 与范刚^[11]采用不同酸解条件水解柑橘中的键合态香气物质所得结论一致。从检测到的香气物质的具体种类上来看, 4种条件下水解得到的键合态香气物质没有一种相同物质, 所得到的键合态香气存在较大的差异。只有异长叶醇在其中3种水解条件下检出, 苯甲酸、2-十四醇、4-羟基- β -紫罗兰酮及1-十五醇等4种物质只在其中两种条件下检出, 另外25种物质只在其中一种条件下检出。总的来说, 在pH1.0条件下40℃水解4d得到的键合态香气物质的种类最多, 且其香气成分也更为丰富, 因此该条件下水解产生的键合态香气物质更为全面。

3-羟基己酸乙酯只在pH2.0条件下40℃水解2d中检出, 这种物质是一种常见的羟基酯类键合态香气物质, 其首次在凤梨(*Ananas comosus* L. Merr.)中被检出以糖苷键合态的形式存在^[12], 该种物质具有橘子味(citrusy), 被认为是锦橙汁中的特征香气活性物质^[13]。

不同pH值条件下所得的键合态香气物质也不同, 相同的结论也在其他的实验中出现过。Williams等^[7]在对葡萄中的键合态香气物质进行酸解研究时也发现不同pH值条件下水解得到的键合态香气物质存在明显差异。本研究发现随着pH值的降低, 水解得到的键合态香气物质种类增多, 造成这种现象的原因可能是由于pH值越低, 越有利于糖苷键的水解, 但在过低的pH值条件下, 也容易引起水解产生的键合态香气物质发生化学反应。同样的实验结果也在烟叶键合态香气物质的酸解研究中出现过, 在pH 4.1、5.5等较高pH值条件下只水解得到较少的键合态香气物质, 而在pH2.5条件下得到的键合态香气物质较多, 达到23种, 随着pH值的降低, 水解得到的键合态香气物质种类增多^[14]。Stefano等^[16]对葡萄和葡萄酒中的键合态香气物质也进行了不同条件下酸水解研究, 结果也发现不同pH值水解条件下得到的键合态香气物质也存在很大的差异。水果中的键合态香气物质在剧烈的酸性环境中能够导致生成的香气物质发生化学变化, 比如萜烯类物质的分子重排, 使其变成另外的物质, 而在温和的酸性环境中, 键合态香气物质则会发生自发的水解。Winterhalter^[15]和Sefton^[16-17]等研究均发现, 葡萄酒在陈酿过程中, 在其自身弱酸性环境中, 部分键合态香气物质会自发的水解释放, 其释放过程时间漫长, 但可生成降异戊二烯类高活性的香气物质。

3 结 论

本实验采用Amberlite XAD-2树脂吸附洗脱分离的方法对树莓汁中的键合态香气物质进行了分离, 对提取得到的键合态组分进行了4种条件的酸解释放研究。4种酸解条件共检出30种键合态香气物质, 以脂肪醇和萜烯类物质为主。从检测结果看, 4种不同酸解条件水解得到的键合态香气物质存在显著性差异, 随着水解pH值的降低, 水解得到的键合态香气物质增多。在pH1.0条件下40℃水解4d所检出的香气物质种类最多, 达11种, 其中3-羟基己酸乙酯、4-羟基- β -紫罗兰酮、薄荷醇等都是重要的香气物质, 其水解释放会在一定程度上增强树莓汁的整体香气品质。

参考文献:

- FRANCIS M J O, ALLCOCK C. Geraniol β -D-glucoside occurrence and synthesis in rose flowers[J]. *Phytochemistry*, 1969, 8: 1339-1347.
- PABST A, BARRON D, SEMONT E, et al. 4-Oxo- β -ionol and linalool glycosides from raspberry fruits[J]. *Phytochemistry*, 1992, 31: 4187-4190.
- DU X F, FINN C E, QIAN M C. Bound volatile precursors in genotypes in the pedigree of 'Marion' Blackberry (*Rubus* spp.)[J]. *Food Chemistry*, 2010, 58: 3694-3699.
- GUNATA Y Z, BAYONOVE C, BAUMES R, et al. Stability of free and bound fractions of some aroma components of grape cv Muscat during the wine processing[J]. *American Journal of Enology and Viticulture*, 1985, 37: 112-114.
- PARK S K, NOBLE A C. Monoterpenes and monoterpene glycosides in wine aromas[M]//ACS symposium series. Beer and wine production. Washington DC: ACS, 1993.
- BOULANGER R, CROUZET J. Free and bound flavour components of Amazonian fruits: 3-glycosidically bound components of cupuacu[J]. *Food Chemistry*, 2000, 70: 463-470.
- WILLIAMS P J, STRAUSS C R, WILSON B. Classification of the monoterpenoid composition of muscat grapes[J]. *American Journal of Enology and Viticulture*, 1981, 32: 230-235.
- MERET M, BRAT P, MERTZ C, et al. Contribution to aroma potential of Andean blackberry (*Rubus glaucus* Benth.)[J]. *Food Research International*, 2011, 44: 54-60.
- ANANTHAKUMAR A, VARIYAR P S, SHARMA A. Estimation of aroma glycosides of nutmeg and their changes during radiation processing[J]. *Journal of Chromatography A*, 2006, 1108: 252-257.
- NONIER M, de GAULEJAC N V, VIVAS N, et al. Glycosidically bound flavour compounds in *Quercus petraea* Liebl. Wood[J]. *Flavour and Fragrance Journal*, 2005, 20: 567-572.
- 范刚. 柑橘及其加工制品中游离子和键合态挥发性物质的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2010.
- WU P, KUO M C, HARTMAN T G, et al. Free and glycosidically bound aroma compounds in Pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.)[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1991, 39: 170-172.
- QIAO Yu, XIE Bijun, ZHANG Yan, et al. Characterization of aroma active compounds in fruit juice and peel oil of Jincheng sweet orange fruit (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) by GC-MS and GC-O[J]. *Molecules*, 2008, 13: 1333-1344.
- JIBAO C, BAIZHAN L, PING L, et al. Analysis of free and bound volatiles by gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry in uncased and cased tobaccos[J]. *Journal of Chromatography A*, 2002, 947: 267-275.
- WINTERHALTER P, SEFTON M A, WILLIAMS P J. Volatile C₁₃ norisoprenoids in Riesling wine are generated from multiple precursors[J]. *American Journal of Enology and Viticulture*, 1990, 41: 277-283.
- SEFTON M A, FRANCIS I L, WILLIAMS P J. The volatile composition of Chardonnay juices. A study by flavor precursors analysis[J]. *American Journal of Enology and Viticulture*, 1993, 44: 359-370.
- SEFTON M A. Hydrolytically-released volatile secondary metabolites from a juice sample of *Vitis vinifera* cvs Merlot and cabernet sauvignon[J]. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 1998, 4: 30-38.