

白扁豆总皂苷的含量测定与成分分析

韩君 (北京康仁堂药业有限公司, 中药配方颗粒关键技术国家地方联合工程研究中心, 北京 101301)

摘要 [目的]对白扁豆进行提取分离纯化以及含量测定与成分分析。[方法]用石油醚对粉碎的白扁豆脱脂,80%乙醇进行回流提取,正丁醇萃取,浓缩正丁醇得白扁豆总皂苷。白扁豆总皂苷粗提物通过硅胶柱、中压 C_{18} 色谱柱进行进一步纯化,用薄层监测收集富集皂苷类成分的洗脱液,得到需要成分。采用紫外可见分光光度计(UV)测定,以0.5%香草酸-冰醋酸溶液和高氯酸为显色剂,测定波长为540 nm,并采用四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱仪(UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS)在负离子模式下对总皂苷进行成分分析。[结果]白扁豆总皂苷通过硅胶柱、中压 C_{18} 色谱柱纯化得到较纯的总皂苷。总皂苷UV测定的线性范围为0.009 6~0.019 2 mg/mL($R^2=0.998 1$);平均回收率为98.15%。白扁豆总皂苷共鉴定出18个化合物。[结论]采用硅胶柱干法上样及中压 C_{18} 色谱柱分离纯化,该方法纯化度高。UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS技术与UV法可用于白扁豆总皂苷的定性定量分析,为后续白扁豆总皂苷生物活性研究提供数据支撑。

关键词 白扁豆;总皂苷;提取纯化;含量测定;成分分析;紫外可见分光光度计;液相色谱-质谱联用

中图分类号 R 284.1 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2021)08-0195-04

doi:10.3969/j.issn.0517-6611.2021.08.051

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Content Determination and Component Analysis of Total Saponins in Lablab Semen Albums

HAN Jun (National and Local Joint Engineering Research Center for Key Technology of Chinese Medicinal Composition Granules, Beijing Temages Pharmaceutical Co., Ltd., Beijing 101301)

Abstract [Objective] To extract, separate and purify the lablab semen albums, and conduct the content determination and component analysis. [Method] The pulverized lablab semen albums were degreased using petroleum ether, followed by reflux extraction with 80% ethanol and extraction with n-butyl alcohol, and then the n-butyl alcohol was concentrated to obtain total saponins in the lablab semen albums. The total saponins were separated and purified via silica gel column and medium-pressure C_{18} chromatographic column, the eluent of thin-layer red spots was collected through thin-layer monitoring, and the components needed were obtained. The content determination was realized by the colorimetric method. To be more specific, 0.5% vanillic acid-glacial acetic acid solution and perchloric acid were used as the color developing agents, the determination wavelength was 540 nm, and the component analysis of total saponins was implemented using the quadrupole rod-electrostatic field orbitrap high-resolution mass spectrometer (UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS) under the negative ion mode. [Result] The total saponins were extracted from the lablab semen albums and purified through the silica gel column and medium-pressure C_{18} chromatographic column. The linearity range in the colorimetric determination of total saponins was 0.009 6~0.019 2 mg/mL ($R^2=0.998 1$); the average recovery rate was 98.15%. A total of 18 chemical compounds were identified from the total saponins in the lablab semen albums. [Conclusion] The separation and purification were carried out through the silica gel column dry-type sample loading and medium-pressure C_{18} chromatographic column, with high degree of purification. The UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS technology and colorimetric method are applicable to the qualitative and quantitative analysis of total saponins in the lablab semen albums, and will provide a data support for the subsequent research on their bioactivity.

Key words Lablab semen album; Total saponin; Extraction and purification; Content determination; Component analysis; UV-visible spectrophotometer; Liquid chromatography-mass spectrometry

白扁豆为豆科植物扁豆(*Dolichos lablab* L.)的干燥成熟种子,呈扁椭圆形或扁卵圆形^[1],气微,微淡,嚼之有豆腥味,用于脾虚泄泻、白带过多。近年来关于白扁豆皂苷类化学成分和生物活性的研究主要是分离齐墩果烷型双皂苷式化合物以及三萜化合物^[2-3],生物活性表现出很好的免疫作用^[4]。相关文献对白扁豆总皂苷的研究鲜见报道,该试验对白扁豆总皂苷进行了提取纯化,采用紫外可见分光光度计(UV)进行含量测定,并利用四极杆-静电场轨道阱高分辨质谱仪(UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS)进行成分分析,为后续白扁豆总皂苷的生物活性研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器 旋转蒸发仪(上海百祥仪器科技有限公司);SHB-Ⅲ循环式多用真空泵(郑州长城科工贸有限公司);超声清洗机(深圳市超洁科技实业有限公司);高速多功能粉碎机(永康富康电器有限公司);抽滤瓶、烧杯等玻璃器

皿(四川蜀玻(集团)有限责任公司);UV(上海菁华科技仪器有限公司);电子天平(上海浦春计量仪器有限公司);恒温水浴锅(山东博科科学仪器有限公司);UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS(美国赛默飞世尔科技公司);齐墩果酸(中国食品药品检定研究院,110709-201808);其他试剂均为分析纯。

1.2 试验方法

1.2.1 白扁豆总皂苷提取。取白扁豆1 kg,用粉碎机粉碎成粗粉,按料液比1:4加入石油醚,浸泡过夜(14 h),过滤;药渣按上述方式重复处理1次,得药渣;药渣按料液比1:6加入80%乙醇,回流提取3次,合并提取液,过滤,得滤液(约17 L);滤液60℃减压浓缩至无乙醇,得水相(约800 mL);加入正丁醇相同体积萃取3次,合并正丁醇相,60℃减压浓缩,得浸膏;浸膏真空干燥3 d,即得白扁豆总皂苷(约12 g)。

1.2.2 白扁豆总皂苷的纯化。取白扁豆总皂苷粗提物12 g,加500 mL甲醇加热回流溶解,加入50 g 100~200目硅胶,旋蒸至干,干燥备用。

取直径6 cm玻璃柱,300 g 200~300目硅胶,乙酸乙酯装柱,沉降完全后,干法硅胶上样,先用乙酸乙酯洗去黄色油性

作者简介 韩君(1988—),男,辽宁开原人,硕士,从事药物分析、天然活性成分研究与利用工作。

收稿日期 2020-12-27;修回日期 2021-01-13

物质,至洗脱液颜色变浅,加入乙酸乙酯:甲醇:水=2:1:0.1洗脱,薄层(TLC)监测三氯甲烷-乙酸乙酯-甲醇-水=15:40:22:10(下层),收集薄层红色斑点,洗脱至薄层检测皂苷红色斑点基本结束,浓缩洗脱液,备用。

硅胶蒸干后样品用1 000 mL 甲醇回流溶解,过滤去掉不溶物,浓缩至干,少量甲醇溶解后,加入少量水,至饱和溶液,加热保持溶解状态。

中压 C₁₈ 色谱柱(3 cm 直径,柱高 30 cm),用 20% 甲醇平衡,加入上述过硅胶柱后样品溶液,用 20% 甲醇洗脱 500 mL、50% 甲醇洗脱 500 mL、75% 甲醇洗脱 1 000 mL、无水乙醇洗脱 500 mL、TLC 检测和高效液相色谱(HPLC)检测(以乙腈为流动相 A,0.05% 磷酸水溶液为流动相 B,按 0~15 min 为 20% A~80% A,15~30 min 为 80% A 进行梯度洗脱,检测波长为 203 nm),收集较纯的皂苷段,浓缩至干,得到 350 mg 较纯的总皂苷,收集杂质多的皂苷段,浓缩至干。

1.2.3 白扁豆总皂苷含量测定方法的确定。

1.2.3.1 对照品溶液的制备。取齐墩果酸对照品适量,加甲醇制成 0.216 mg/mL 的溶液。

1.2.3.2 标准曲线的绘制。精密量取对照品溶液 0、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8 mL,置于具塞比色管中,水浴蒸干,分别精密加 0.5 mL 5 mg/mL 香草醛-冰醋酸溶液,溶解残渣后,精密加 2 mL 高氯酸,摇匀,70 °C 水浴 10 min,用冷水冷却 5 min,精密加入冰醋酸 6.5 mL,摇匀后,放置 10 min,以相应试剂为空白,在 540 nm 的波长处测定吸光度,并绘制标准曲线,得出标准曲线为 $y = 30.667x + 0.0204$,检测的浓度为 0.009 6~0.019 2 mg/mL。

1.2.3.3 测定法。精密称取样品 5.0 mg,置于 10 mL 容量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀。精密量取 0.6 mL,置于具塞比色管中,按照“1.2.3.2”方法,自“水浴蒸干”起,按此法测吸光度,从标准曲线上计算出样品中齐墩果酸的含量,即得。

1.2.4 总皂苷 UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS 成分分析。

1.2.4.1 色谱条件。Hypersil GOLD 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 3 μm);柱温 25 °C;流动相为甲醇(A)-0.1%甲酸(B),梯度洗脱(0~15 min,20%~90% A;15~20 min,90% A;20~21 min,90%~20% A;21~30 min,20% A);流速 0.25 mL/min;进样量 0.1 μL;紫外全波长。

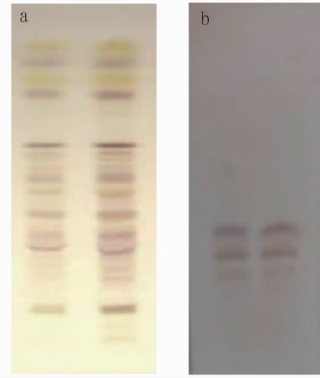
1.2.4.2 质谱条件。毛细管温度为 300 °C,电喷雾电压为 3.2 kV,鞘气(氮气)流量为 275.8 kPa,辅助气体(氮气)流量为 5 L/min,采集范围 m/z 135~2 000。

1.2.4.3 供试品溶液制备。取白扁豆总皂苷适量,精密称定,加甲醇制成 1.45 mg/mL 的溶液,超声,滤过,即得。

2 结果与分析

2.1 白扁豆总皂苷制备 白扁豆先用石油醚脱脂,再用 80% 乙醇提取,可将白扁豆中化学成分极性较大的物质提取出来,然后正丁醇萃取,正丁醇中留有白扁豆总皂苷,白扁豆总皂苷粗提取物正丁醇部分在 TLC 板上呈现多个条状(图 1a),需要进一步的分离纯化。正丁醇萃取富集白扁豆总皂苷通过硅胶柱进行分离得到流分,采用中压 C₁₈ 色谱柱对

总皂苷进行进一步分离纯化,经过多次的柱层析后,可除去皂苷以外的杂质得到高纯度的皂苷(图 1b)。



注:a.白扁豆总皂苷粗提物 TLC;b.白扁豆总皂苷过中压 C₁₈ 色谱柱后 TLC

Note:a.TLC of the crude extract of total saponins of lablab semen album;b.TLC of total saponins of lablab semen album after passed through medium-pressure C₁₈ chromatographic column

图 1 白扁豆总皂苷过中压 C₁₈ 色谱柱前后 TLC 比较

Fig.1 Comparison of TLC before and after the total saponins of lablab semen album passed through medium pressure C₁₈ chromatographic column

2.2 白扁豆总皂苷含量方法学考察

2.2.1 重复性试验。取本品,按“1.2.3.3”方法操作,共 6 份,使用 UV 仪器,测定总皂苷(以齐墩果酸计)的平均含量为 520 mg/g,RSD 为 1.8%,表明该方法重复性良好。

2.2.2 精密度试验。取“2.2.1”重复性试验供试品溶液 1 份,使用 UV 仪器,连续测定 6 次吸光度的 RSD 为 0.2%,表明该试验条件下精密度良好。

2.2.3 稳定性试验。取“2.2.1”重复性试验供试品溶液 1 份,使用 UV 仪器,分别于 60 min 内每隔 10 min 测定吸光度一次,其吸光度的 RSD 为 0.5%,表明供试品溶液稳定性良好。

2.2.4 加样回收试验。取齐墩果酸对照品适量,加甲醇制成 0.216 mg/mL 的溶液,作为供加样回收试验用对照品溶液,分别精密量取 6 mL,置具塞圆底烧瓶中,减压浓缩至干,共 6 份。取本品约 2.5 mg,精密称定,依次加入上述圆底烧瓶中,按“1.2.3.3”方法操作,使用 UV 仪器测定吸光度,计算加样回收率,其平均值为 98.15%(表 1)。

表 1 加样回收试验

Table 1 Adding sample recovery test

取样量 Sampling amount mg	本底量 Background amount mg	加入量 Addition amount mg	测得量 Measured amount mg	回收率 Recovery rate/%
2.504	1.302	1.296	2.551	96.38
2.512	1.306	1.296	2.544	95.49
2.501	1.300	1.296	2.597	100.08
2.508	1.304	1.296	2.615	101.16
2.523	1.312	1.296	2.577	97.60
2.507	1.304	1.296	2.576	98.18

2.2.5 含量测定。按“1.2.3.3”方法操作,使用 UV 仪器对白

扁豆总皂苷样品进行了测定,结果发现,白扁豆总皂苷的平均含量为 528 mg/g, RSD 为 0.9%。

2.3 白扁豆总皂苷成分分析 基于 UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS 技术,用上述样品处理方法及分析条件鉴定白扁豆总皂苷成分,并对其进行分析。首先,样品注入 UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS 中,通过 MS 全扫描(full scan)获得的高分辨率质量数据;其次,通过设置 Compound Discover 的工作流参数来预测皂苷的分子式以及结合 MS 全扫描和高分辨率提取离子色谱(HREIC)等处理确认了皂苷的分子式,从而生成了离子列表,使用 UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS 通过平行反应监测模式(由上面建立的离子列表)获取碎片离子。最后,根据碎片离子、保留时间和参考文献^[5-7]确定了皂苷候选对象。在负离子模式下从白扁豆总皂苷中共分析鉴定了 18 个皂苷成分,见图 2 和表 2,其中以化合物 5 为例,提取离子色谱图及二级质谱图见图 3,质谱裂解途径见图 4。

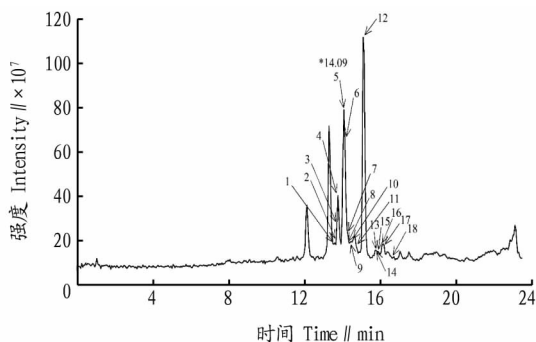


图 2 白扁豆总皂苷总离子流图

Fig.2 Total ion current graph of total saponins in lablab semen album

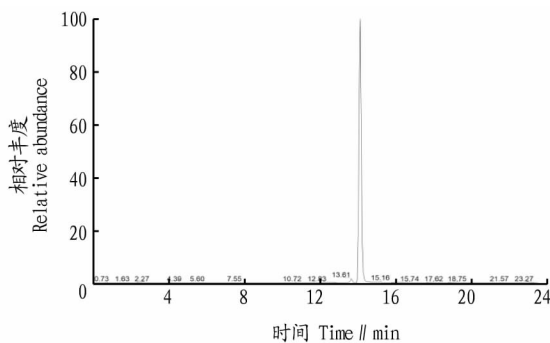


图 3 化合物 5 提取离子色谱图及二级质谱图

Fig.3 The extracted ion chromatogram and MS spectrum of compound 5

总皂苷粗提物 TLC 图中可见有黄酮等极性较大的水溶性物质,容易吸附于硅胶上,而皂苷极性较弱容易被洗脱下来,不易被吸附,因此根据这个特点,可采用硅胶色谱柱将白扁豆中皂苷与其他杂质分离^[10]。故该试验采用硅胶柱干法上样及中压 C₁₈ 色谱柱分离纯化,该方法具有得率高、纯化度高的特点。

该试验采用 UV 测定了白扁豆总皂苷的含量,结果表明 UV 测定总皂苷的方法其方法学要求各项内容良好,可用于白扁豆总皂苷的含量测定。

该研究应用 UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS 技术,识别

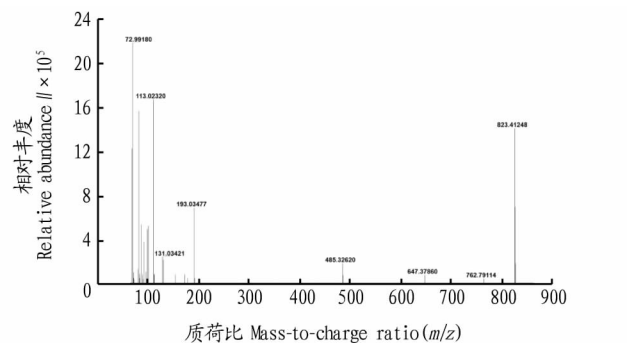
表 2 白扁豆总皂苷成分鉴定结果

Table 2 Component identification results of total saponins in lablab semen album

编号 No.	保留时间 Retention time min	分子量 Molecular weight Da	分子式 Molecular formula	鉴定结果 Identification result
1	13.61	971.486 45	C ₄₈ H ₇₆ O ₂₀	Caryocaroside II-11
2	13.67	1 133.539 31	C ₅₄ H ₈₆ O ₂₅	Azukisaponin VI
3	13.72	955.491 52	C ₄₈ H ₇₆ O ₁₉	Chikusetsusaponin V
4	13.78	809.433 47	C ₄₂ H ₆₆ O ₁₅	Bonushenricoside B
5	14.09	823.412 48	C ₄₂ H ₆₄ O ₁₆	Copteroside G
6	14.15	939.496 03	C ₄₈ H ₇₆ O ₁₈	3-O-[R-L-Rhamnopyranosyl(1-2)-a-D-glucopyranosyl(1-2)-a-D-glucuronopyranosyl]olean-12-en-22-oxo-3a,-24-diol
7	14.31	957.507 02	C ₄₈ H ₇₈ O ₁₉	Oleanane, β-D-dglucopyranosiduronic acid deriv.
8	14.36	1 117.544 68	C ₅₄ H ₈₆ O ₂₄	Lablaboside B
9	14.41	1 261.587 77	C ₆₀ H ₉₄ O ₂₈	Lablaboside D
10	14.47	1 101.550 17	C ₅₄ H ₈₆ O ₂₃	Lablaboside A
11	14.74	1 081.523 68	C ₅₄ H ₈₂ O ₂₂	Lablab saponin I
12	15.11	793.438 35	C ₄₂ H ₆₆ O ₁₄	Chikusetsusaponin IVa
13	15.79	941.512 58	C ₄₈ H ₇₈ O ₁₈	Soyasaponin I
14	15.84	795.454 28	C ₄₂ H ₆₈ O ₁₄	Azukisaponin II
15	15.90	911.503 05	C ₄₇ H ₇₆ O ₁₇	Soyasaponin Bc(II)
16	16.11	925.517 77	C ₄₈ H ₇₈ O ₁₇	Chikusetsusaponin Ib
17	16.21	779.459 59	C ₄₂ H ₆₈ O ₁₃	Erythrosaponin A
18	16.63	1 067.546 02	C ₅₄ H ₈₄ O ₂₁	Soyasaponin βg

3 讨论与结论

大孔树脂吸附法在总皂苷的分离纯化中应用也较为广泛,在黄芪^[8]、三七^[9]等皂苷的提取纯化中效果较好,但忽略大孔吸附树脂预处理效果及提取物中树脂残留物。白扁豆



了白扁豆总皂苷中主要化学成分。采用正负离子模式进行全扫描检测,由于皂苷类化合物易脱氢形成负离子,该离子的质荷比值即可得到未知皂苷化合物分子量。皂苷化合物在电喷雾条件下糖分子可与苷元分子发生断裂形成脱糖碎片离子,根据皂苷化合物糖分子类别及皂苷元类别和数量,便可解释碎片离子并对皂苷化合物进行定性鉴别^[11]。通过高分辨质谱信息,共定性鉴别白扁豆总皂苷中 18 种化合物。目前,关于白扁豆总皂苷生物活性的报道不多,该研究也为白扁豆的定性分析及进一步阐明其生物活性和质量控制提供数据支撑和可借鉴的方法。

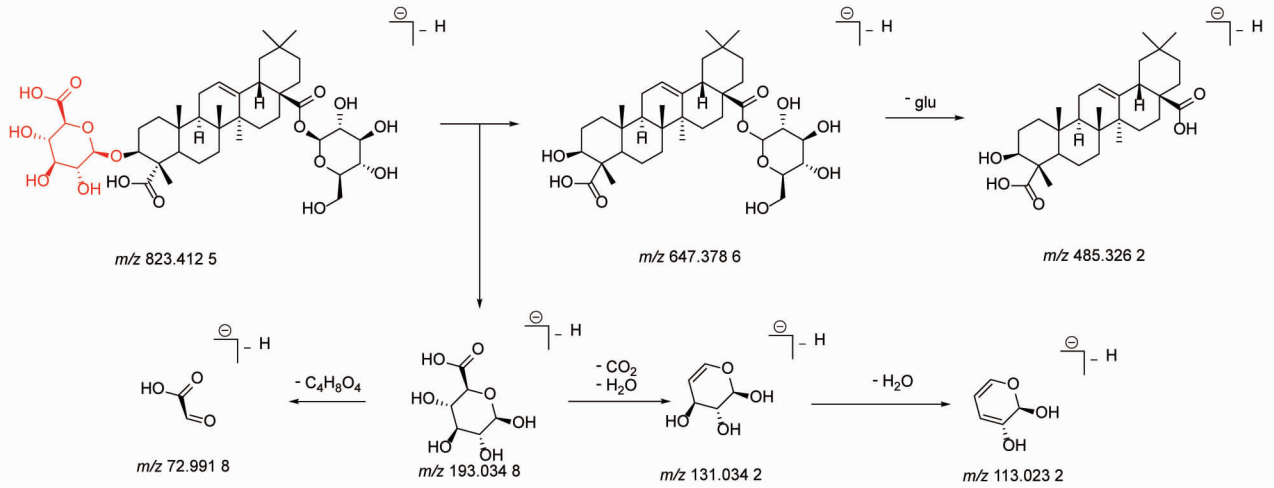


图4 化合物5的质谱裂解途径

Fig.4 Mass spectrometry fragmentation pathway of compound 5

参考文献

- [1] 熊鹏辉.几种常用中药材与混伪品鉴别[J].时珍国医国药,2000,11(1):51.
- [2] YOSHIKI Y, KIM J H, OKUBO K, et al. A saponin conjugated with 2,3-dihydro-2,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one from *Dolichos lablab* [J]. Phytochemistry, 1995, 38(1): 229-231.
- [3] YOSHIKAWA M, MURAKAMI T, KOMATSU H, et al. Medicinal foodstuffs. XI. Saponin constituents with adjuvant activity from hyacinth bean, the seeds of *Dolichos lablab* L. (1); Structures of lablabosides A, B, and C [J]. Chemical & pharmaceutical bulletin, 1998, 46(5): 812-816.
- [4] 杨忠义. Lablaboside F 的高效合成 [D]. 郑州: 郑州大学, 2013.
- [5] HA T J, LEE B W, PARK K H, et al. Rapid characterisation and comparison of saponin profiles in the seeds of Korean Leguminous species using ultra performance liquid chromatography with photodiode array detector and electrospray ionisation/mass spectrometry (UPLC-PDA-ESI/MS) analysis [J]. Food chemistry, 2014, 146(3): 270-277.

- [6] KOKANOVA-NEDIALKOVA Z, NEDIALKOV P T, MOMEKOV G. Saponins from the roots of *Chenopodium bonus-henricus* L. [J]. Natural product research, 2019, 33(14): 2024-2031.
- [7] SHI J J, CAI Z C, CHEN S Y, et al. Qualitative and quantitative analysis of saponins in the flower bud of *Panax ginseng* (Ginseng Flos) by UFLC-Triple TOF-MS/MS and UFLC-QTRAP-MS/MS [J]. Phytochemical analysis, 2020, 31(3): 287-296.
- [8] 刘瑞, 张弘驰, 延文星, 等. XDA-4 型大孔树脂对黄芪总皂苷富集工艺的优选 [J]. 食品研究与开发, 2020, 41(23): 92-98.
- [9] 林伟鑫, 姚曦, 李勇, 等. 三七总皂苷提取、大孔树脂纯化工艺研究 [J]. 食品与药品, 2015, 17(3): 156-161.
- [10] 张新宇, 张笛, 王琳, 等. 胶股蓝皂苷提取纯化工艺研究进展 [J]. 食品工业科技, 2014, 35(18): 378-382, 386.
- [11] 何弦, 唐晓花, 闫海全, 等. 液相色谱分离-飞行时间质谱法鉴定中药三七中主要皂苷化合物 [J]. 四川化工, 2014, 17(2): 26-29.

(上接第 194 页)

3 结论

SPME-GC/TOF-MS 法测定再造烟叶提取液中挥发性成分的方法具有样品用量少、方法简单快速的优点, 能有效地萃取出样品中的醇类、酮类、酯类、醛类、含氮化合物等挥发性成分。优化后的 SPME 条件为 PDMS/DVB 固相微萃取头、样品用量 2 mL、萃取温度 75 °C、萃取时间 40 min、解吸时间 3 min。用该方法对挥发性成分的峰面积总和及其中的 38 种典型物质进行重复性验证, 相对标准偏差均小于 20%, 重复性较好。烟草中常见的 16 种挥发性物质的回收率均在 80%~120%。说明该法能较准确地用于烟叶提取液中挥发性成分的定性分析与定量分析, 能够为分析再造烟叶提取液中的挥发性成分、改善再造烟叶品质提供依据。

参考文献

- [1] 赵英良, 段孟, 史近文, 等. 造纸法再造烟叶提取过程中关键化学成分的溶出规律 [J]. 湖北农业科学, 2015, 54(1): 114-117.
- [2] 李华雨, 常岭, 王相凡, 等. 再造烟叶生产中浓缩温度对提取液中中性香味成分的影响 [J]. 烟草科技, 2016, 49(7): 60-69.
- [3] 吴银菊, 吴名剑, 蒋腊梅, 等. 固相萃取-气相色谱/质谱同时测定卷烟滤嘴中的四种芳香胺 [J]. 分析科学学报, 2008, 24(5): 557-560.
- [4] 张丹丹, 李晓路, 周宇, 等. 利用 GC-MS 分析不同白酒中的微量组分

- [J]. 安徽农业科学, 2018, 46(10): 167-169, 214.
- [5] 吴丽君, 段佳, 李春子, 等. 同时蒸馏萃取-气相色谱/质谱法分析烟草中挥发性成分 [J]. 分析科学学报, 2012, 28(6): 807-810.
- [6] 李建勋, 孙梦圆, 胡雪艳, 等. 顶空固相微萃取结合气相色谱-三重四极杆质谱法快速测定茶叶中 11 种酰胺类除草剂残留 [J]. 分析测试学报, 2017, 36(11): 1339-1345.
- [7] 冯涛, 桑敏, 庄海宁, 等. 顶空固相微萃取 GC-MS 联用测定竹叶青酒中的挥发性成分 [C]//中国香料香精化妆品工业协会. 第十一届中国香料香精学术研讨会论文集. 北京: 中国香料香精化妆品工业协会, 2016: 7.
- [8] 宋晓娟, 李海燕, 李春玲, 等. 顶空固相微萃取-气相色谱法测定地表水中 15 种硝基苯类化合物 [J]. 环境科技, 2018, 31(4): 63-68.
- [9] 张婕, 许曼筠, 李美萍, 等. 顶空固相微萃取-气相色谱/质谱分析艾叶中的挥发性成分 [J]. 分析科学学报, 2017, 33(6): 803-811.
- [10] 林杰, 江汉美, 卢金清, HS-SPME-GC-MS 法分析杜仲和杜仲叶中挥发性成分 [J]. 安徽农业科学, 2018, 46(10): 165-166, 199.
- [11] 蔡冰, 王建新, 陈祖刚, 等. 造纸法再造烟叶致香成分的分析 [J]. 烟草科技, 2002, 35(6): 19-23.
- [12] 李炎强, 郝建辉, 赵明月, 等. 烤烟烟梗和叶片中性香味成分的分析 [J]. 烟草科技, 2002, 35(11): 3-6.
- [13] 周淑平, 向章敏, 张长云, 等. 贵州不同产地烟叶中重要挥发性中性致香成分的检测与分析 [J]. 贵州农业科学, 2011, 39(12): 83-86, 90.
- [14] 鹿洪亮, 钟巧霞, 赵明月, 等. GC/MS, GC×GC/TOFMS 分析烟草半挥发性中性成分比较 [J]. 烟草科技, 2007, 40(1): 32-37, 45.
- [15] 傅若农. 固相微萃取 (SPME) 近几年的发展 [J]. 分析试验室, 2015, 34(5): 602-620.
- [16] 严留俊, 张艳芳, 陶文沂, 等. 顶空固相微萃取-气相色谱-质谱法快速测定酱油中的挥发性风味成分 [J]. 色谱, 2008, 26(3): 285-291.