

# 藏药云南兔耳草总环烯醚萜苷闪式提取工艺优化及体外抗氧化、抗炎活性研究

桂明安, 德兰, 杨贵斌, 高丹, 央卓玛, 卓玛东智, 袁瑞琪\*

西藏大学医学院, 拉萨 850001

**摘要:** 本研究旨在提高云南兔耳草中总环烯醚萜苷的提取率, 并评估其在体外抗氧化和抗炎活性方面的表现。采用闪式提取法在单因素实验结果的基础上, 进行 Box-Behnken 响应面分析, 优化后云南兔耳草中总环烯醚萜苷的平均提取率为 10.56%, 总环烯醚萜苷能够较好的清除 DPPH、ABTS 自由基并且对脂多糖诱导的 RAW 267.4 细胞炎症模型表现出抗炎作用, 降低细胞中 NO 和 TNF- $\alpha$  的表达量, 本研究所得到的提取工艺方法简单易行、稳定可靠, 可用于云南兔耳草总环烯醚萜苷的进一步研究和应用。

**关键词:** 云南兔耳草; 总环烯醚萜苷; 响应面法; 抗氧化; 抗炎

中图分类号: R932

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2024) Suppl-0091-07

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2024.S.012

## Optimization of flash extraction process and *in vitro* antioxidant and anti-inflammatory activities of total iridoid glycosides from the Tibetan medicine *Lagotis yunnanensis*

GUI Ming-an, DE Lan, YANG Gui-bin,

GAO Dan, YANG Zhuo-ma, ZHUOMA Dong-zhi, YUAN Rui-ying\*

School of Medicine, Tibet University, Lasa 850001, China

**Abstract:** This study aims to enhance the extraction yield of total iridoid glycosides from *Lagotis yunnanensis* W. W. Smith and evaluate their *in vitro* anti-oxidant and anti-inflammatory properties. Based on the single factor experimental results, Box-Behnken response surface analysis was carried out by flash extraction method. The average extraction rate of total iridoid glycosides from *L. yunnanensis* was 10.56%. The total iridoid glycosides can better scour DPPH and ABTS free radicals and show anti-inflammatory effect on lipopolysaccharide-induced RAW 267.4 cells inflammation model, reduce the expression of NO and TNF- $\alpha$  in cells. The extraction process obtained in this study is simple, stable and reliable. It can be used for the further research and application of total iridoid glycosides of *L. yunnanensis*.

**Key words:** *Lagotis yunnanensis*; total iridoid glycosides; response surface method; antioxidant; anti-inflammatory

云南兔耳草 (*Lagotis yunnanensis* W. W. Smith) 分布于海拔 3 350~4 700 m 的高山草地, 为多年生草本, 属于玄参科兔耳草属植物, 在中国西藏、云南西北部、四川西北部等均有分布<sup>[1]</sup>。传统上主要用于治疗伤筋、烦渴、肠痧、炭疽、肝胆病等<sup>[2]</sup>, 藏医使

用其治疗肝炎等疾病, 可煎汤内服或浸酒饮服, 云南民间以此作为茶饮, 治疗肝病, 降血压或行血调经。根据文献报道环烯醚萜苷类是其重要的化学成分<sup>[3-5]</sup>, 因此, 本研究对云南兔耳草总环烯醚萜苷类化合物进行提取工艺的筛选优化。现阶段提取环烯醚萜苷的主要方法有回流提取法和超声提取法<sup>[6,7]</sup>。但耗时长、耗能大, 由于环烯醚萜苷类化合物性质不稳定是其问题。闪式提取工艺作为新的提取方法, 利用高速旋转的刀头将药材破碎, 并使成分快速溶解到溶剂中, 使得提取时间缩短 2 min 以内, 防止了不稳定成分的破坏。

收稿日期: 2024-04-03

接受日期: 2024-05-23

基金项目: 国家自然科学基金(81960781); 西藏自治区中央引导地方科技发展资金-自由探索类基础研究(XZ2023 01 YD0016C); 西藏大学“高水平人才培养计划”(2022-GSP-S125); 西藏自治区拉萨市科技计划(LSKJ202321)

\* 通信作者 Tel: 86-013618900450; E-mail: lyuan2yuan@163.com

本研究使用闪式提取法,考察了乙醇浓度、液料比、闪提时间、提取电压、提取次数对云南兔耳草总环烯醚萜苷得率的影响,在此基础上,利用响应面法对提取时间、提取电压和乙醇浓度等三个因素进行了调整并优化,得到最佳的闪式提取工艺条件,为将闪式提取法应用于云南兔耳草环烯醚萜苷的提取提供了参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料、试剂和仪器

实验用云南兔耳草植物购买于西藏亚郎藏药材销售有限公司,经西藏大学医学院卓玛东智副教授鉴定为云南兔耳草 (*Lagotis yunnanensis* W. W. Smith) 的全草,植物样本存放于西藏大学医学院药学系植物标本室,藏药组分库。

桃叶珊瑚苷对照品(纯度 99.58%,批号: MUST-23092514,成都曼斯特生物科技有限公司);对二甲氨基苯甲醛、磷酸、过硫酸钾(分析纯,批号: R000671-25 g、R018659-500 mL、R018674-500 g,上海易恩化学技术有限公司);1,1-苯基-2-苦肟基自由基(DPPH)、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS)(批号: D4313、A5200,梯希爱(上海)化成工业有限公司)。RAW 267.4 细胞(批号: CM-0190,武汉普诺赛生命技术有限公司);RAW 267.4 细胞专用培养基(批号: CM-0190,武汉普诺赛生命技术有限公司);MTT 噻唑蓝(批号: M8180-1 g,北京索莱宝科技有限公司);一氧化氮(NO)比色法测试盒(批号: E-BC-K035-M)、人肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )酶联免疫吸附测定试剂盒(批号: E-EL-H0109)(武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司);脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)(批号: L2630, Sigma-Aldrich LLC.)

闪式提取器(JHBE-50T,上海钜帜精密设备有限公司);精密天平(XP-205,梅特勒托利多国际有限公司);紫外分光光度计(UV-2700,岛津企业管理(中国)有限公司)、石英比色管(H-000463,江苏温斯莱特实验仪器有限公司)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 桃叶珊瑚苷对照品的配置及标准曲线的配制

精密称取 5.05 mg 的桃叶珊瑚苷标准品,加水定容到 5 mL,制得,精密移取 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8 mL 标准品母液,稀释成 1 mL,根据文献方法<sup>[8]</sup>,取各浓度标准品溶液 0.8 mL,加入 E-试剂(配方:对二甲氨基苯甲醛 0.25 g、35% 磷酸 5 g、冰醋酸 50 mL、

水 20 mL) 1.7 mL、20% 盐酸 0.5 mL 及乙醇 2.5 mL,定容到 10 mL,75 °C 水浴加 20 min,待溶液冷却至室温,596 nm 处测定溶液的吸光度,得到回归方程:  $Y = 0.7122X + 0.1009$ ,  $R^2 = 0.9979$ 。吸光度和桃叶珊瑚苷线性关系良好(见图 1)。

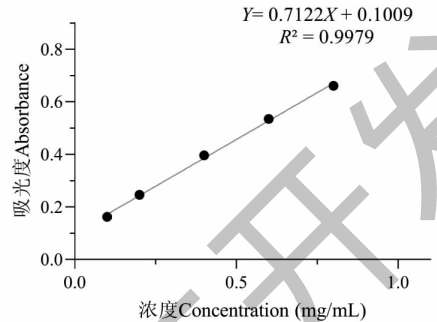


图 1 环烯醚萜苷类标准曲线

Fig. 1 Standard curve of iridoid glycosides

#### 1.2.2 云南兔耳草溶液供试品溶液的配制

精密称取云南兔耳草粉末 100 g 数份,将料液比、提取时间、提取电压、提取次数、乙醇浓度作为自变量进行闪式提取,过滤,定容,各取 1 mL 的样品溶液,定容到合适体积,得供试品溶液,进行吸光度的测定。

#### 1.2.3 单因素实验设计

以总环烯醚萜苷含量作为指标,考察乙醇浓度(60、70、80、90、100%)、提取电压(50、75、100、125、150 V)、液料比(10:1、30:1、40:1、50:1、80:1、100:1)、提取时间(40、60、80、100、120 s)、提取次数为(1、2、3 次)对其影响。

#### 1.2.4 响应面实验设计

按照 Box-Behnken 的方法,设计三因素三水平响应面实验(见表 1)。

表 1 响应面因素水平

Table 1 Factor and level of response surface

水平 Level	因素 Factor		
	A:乙醇浓度 Ethanol concentration (%)	B:电压 Voltage (V)	C:时间 Times (s)
-1	70	100	60
0	80	125	80
1	90	150	100

#### 1.2.5 云南兔耳草总环烯醚萜苷体外抗氧化试验

##### 1.2.5.1 清除 DPPH 自由基能力的测定

根据 Yang 等<sup>[9]</sup>的研究方法,采用倍比稀释法配置总环烯醚萜苷 DMSO 溶液,浓度范围为 1.562 5

~100 mg/mL,在96孔板中,每组分别加入100  $\mu$ L不同浓度的样品溶液与100  $\mu$ L的DPPH(0.1 mmol/L)溶液,空白组用无水乙醇替换DPPH溶液,对照组用DMSO溶液替代样品,置于37  $^{\circ}$ C避光环境中静置30 min,用酶标仪在517 nm波长下测定吸光度,样品组吸光度记为 $A_1$ ,空白对照吸光度记为 $A_0$ ,按公式(1)计算DPPH自由基清除率( $R$ )。

$$R = \frac{A_1 - A_0}{A_1} \times 100\% \quad (1)$$

#### 1.2.5.2 清除ABTS自由基能力的测定

将ABTS溶液用pH值为7.4的PBS稀释,确保在734 nm的吸光度为 $0.70 \pm 0.02$ 。接着,在96孔板中,分别加入不同浓度的总环烯醚萜苷溶液和100  $\mu$ L ABTS工作液混合。对照组使用PBS代替ABTS,空白组用蒸馏水替代样品,置于37  $^{\circ}$ C避光环境中静置30 min。用酶标仪在734 nm波长下测定吸光度,样品组吸光度记为 $A_1$ ,空白对照吸光度记为 $A_0$ ,按公式(1)计算ABTS自由基清除率。

#### 1.2.6 云南兔耳草总环烯醚萜苷体外抗炎试验

##### 1.2.6.1 RAW 267.4 细胞培养及细胞活力测试

RAW 267.4 细胞在专用培养基为生长条件,细胞在37  $^{\circ}$ C恒温箱内的5%  $\text{CO}_2$  环境进行每日传代。根据文献<sup>[10]</sup>的方法,采用MTT法测定细胞活力,在96孔板中以每孔100  $\mu$ L,细胞密度为 $6 \times 10^5$  个/mL进行细胞接种。在细胞培养24 h后,向每个孔中加入2.5 mg/mL的MTT溶液(50  $\mu$ L),进行4 h的孵育。MTT处理后,用DMSO溶解生成的甲臜晶体,然后在490 nm波长下测定吸光度,得到吸光度记为 $A_1$ ,未加空白总环烯醚萜苷记为 $A_2$ ,未加MTT对照组吸光度记为 $A_0$ ,按照公式(2)计算细胞活力( $C$ )。

$$C = \frac{A_1 - A_0}{A_2 - A_0} \times 100\% \quad (2)$$

##### 1.2.6.2 体外NO及TNF- $\alpha$ 生成量测试

将细胞培养在6孔板中,分为空白组(control, Con)、LPS造模组(model, Mod)、三个不同剂量组(12.5、25、50  $\mu$ g/mL)及地塞米松阳性组(Dex),给药组分别给予不同浓度总环烯醚萜苷及地塞米松(50  $\mu$ g/mL),24 h后模型及给药组给予1  $\mu$ g/mL LPS造模,培养24 h采用NO、TNF- $\alpha$ 试剂盒对细胞培养上清液进行体外NO生成量测试,操作按照说明书进行。

##### 1.2.7 数据统计分析

Design-Expert Software 12.0 软件对响应面实验

数据进行二次多项回归拟合方差分析。方差分析使用One-Way ANOVA 检验其显著性, $P < 0.05$  表示差异具有统计学意义。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素考察结果

#### 2.1.1 乙醇浓度的考察结果

如图2所示,总环烯醚萜苷含量随乙醇浓度上升呈先上升后下降的趋势,可能由于溶解性随乙醇浓度变化导致,选择乙醇浓度作为一因素进行响应面实验。

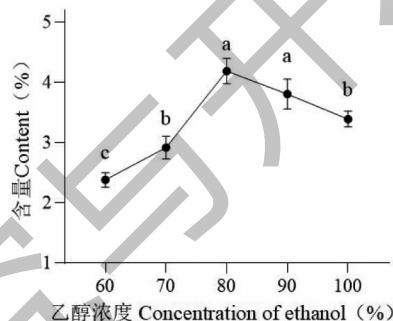


图2 乙醇浓度对总环烯醚萜苷含量的影响

Fig. 2 Effect of ethanol concentration on total iridoid glycoside content

#### 2.1.2 料液比的考察结果

如图3所示,总环烯醚萜苷含量随料液比上升呈先上升趋势,在1:50料液比时环烯醚萜苷含量达到最大,故选择料液比1:50作为最优料液比。

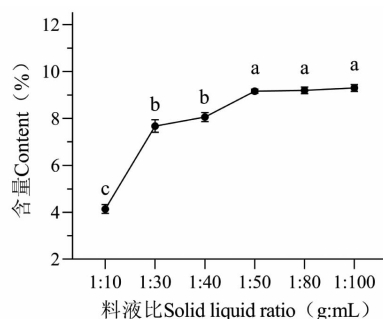


图3 料液比对总环烯醚萜苷含量的影响

Fig. 3 Effect of solid-liquid ratio on total iridoid glycoside content

#### 2.1.3 提取时间的考察结果

如图4所示,总环烯醚萜苷含量随乙醇浓度上升呈先上升后下降的趋势,选择提取时间作为一因素进行响应面实验。

#### 2.1.4 提取电压的考察结果

如图5所示,总环烯醚萜苷含量随电压上升呈

先上升后下降的趋势,选择提取电压作为一因素进行响应面实验。

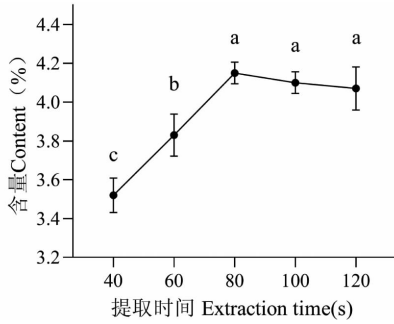


图4 提取时间对总环烯醚萜苷含量的影响

Fig. 4 Effect of extraction time on total iridoid glycoside content

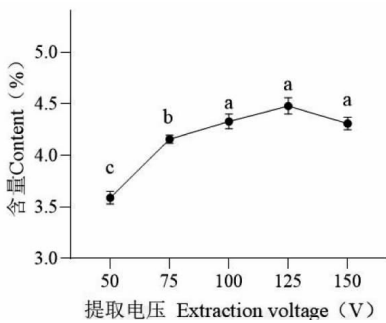


图5 提取电压对总环烯醚萜苷含量的影响

Fig. 5 Effect of extraction voltage on total iridoid glycoside content

### 2.1.5 提取次数的考察

如图6所示,总环烯醚萜苷含量随提取次数上升呈上升趋势,故选择提取次数为两次为最佳的提取次数。

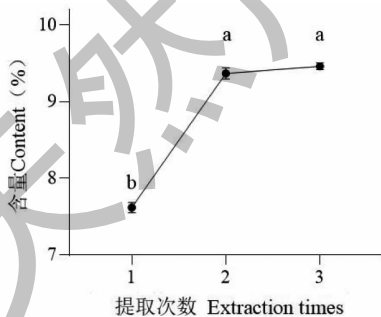


图6 提取次数对总环烯醚萜苷含量的影响

Fig. 6 Effect of extraction times on total iridoid glycosides content

## 2.2 响应面实验

### 2.2.1 响应面实验分析

响应面试验设计及结果见表2,通过 Design Expert 进行多元回归拟合,建立数学模型,模型  $P <$

$0.0001$ ,模型的失拟项  $P = 0.4507 > 0.05$ ,表示模型拟合良好,模型方程中的  $B$ 、 $C$ 、 $A_2$ 、 $B_2$ 、 $C_2$  对环烯醚萜苷的得率均有显著或极显著的影响(见表3),且通过  $F$  值确定对于环烯醚萜苷得率的影响程度为电压  $>$  时间  $>$  乙醇浓度。

表2 响应面试验设计及结果

Table 2 Design and results of response surface experiments

编号 No.	乙醇浓度 Concentration of ethanol	电压 Voltage	时间 Time	总环烯醚 萜苷得率 Yield of total iridoid glycosides (%)
1	-1	1	0	8.33
2	0	0	0	10.51
3	-1	0	1	9.29
4	0	0	0	10.62
5	-1	-1	0	8.73
6	1	1	0	7.98
7	0	-1	-1	8.91
8	0	1	-1	8.66
9	0	0	0	10.25
10	-1	0	-1	9.25
11	0	0	0	10.18
12	1	0	1	8.89
13	1	-1	0	8.59
14	1	0	-1	9.71
15	0	-1	1	8.87
16	0	0	0	10.51
17	0	1	1	8.49

表3 回归模型方差分析表

Table 3 ANOVA results for regression model

来源 Source	平方和 Sum of squares	$F$	$P$
模型 Model	11.39	34.26	$< 0.0001^{**}$
$A$	0.0612	1.66	0.2388
$B$	0.3362	9.1	$0.0195^*$
$C$	0.1985	5.37	0.0536
$AB$	0.011	0.2985	0.6018
$AC$	0.087	2.36	0.1687
$BC$	0.0042	0.1144	0.7451
$A_2$	2.02	54.78	$0.0001^{**}$
$B_2$	7.26	196.59	$< 0.0001^{**}$
$C_2$	0.571	15.46	$0.0057^{**}$
残差 Residual error	0.2586	7	$0.0369^*$
失拟项 Residual	0.116	1.09	0.4507
误差 Pure error	0.1425		
总离差 Cor total	11.65		

### 2.2.2 响应面的因素交互作用分析

通过 Design Expert 绘制响应面图,进而进行二维等高线图绘制,陡峭程度越高表示相互作用越大,

在图 7~9 中,乙醇浓度与料液比的交互作用最大,因素交互作用的强弱顺序为:BC > AC > AB。

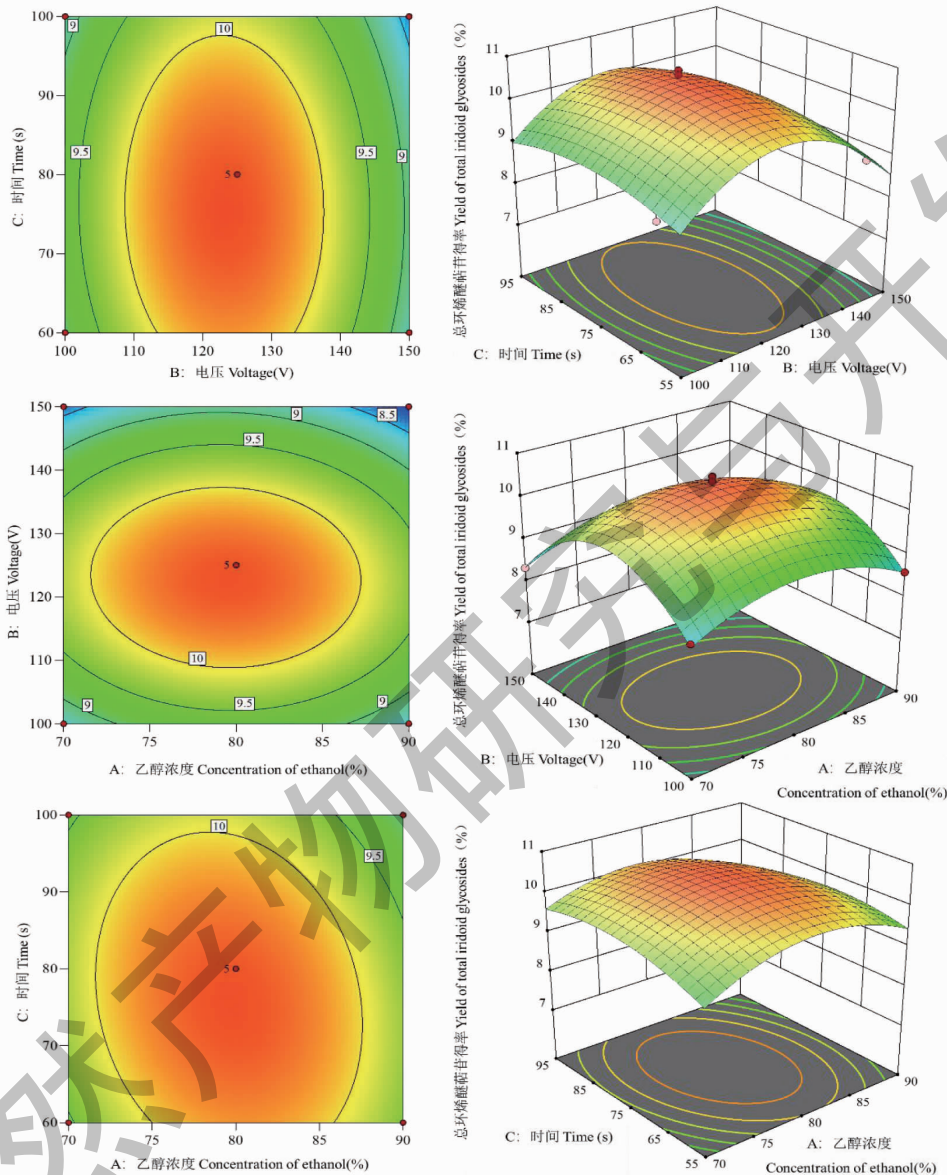


图 7 各因素交互作用对环烯醚萜苷提取率影响等高线及响应面图

Fig. 7 Contour and response surface plots of the influence of the interaction of various factors on the extraction yield

### 2.2.3 优化工艺实验结果

通过回归模型分析,理论条件下最佳提取工艺为乙醇浓度(79.62%)、提取时间(75.925 s)、电压(123.133 V),该条件下理论总苷含量为 10.44%,由于实验操作无法准确控制,故选择乙醇浓度 80%、提取时间 75 s、提取电压 125 V 进行三次验证实验,得到的总环烯醚萜苷得率分别为 10.50%、10.61%、10.58%,平均得率为 10.56%。与理论值

相比,误差约为 0.12%。因此,云南兔耳草中总环烯醚萜苷提取工艺的优化适宜使用该回归模型。

### 2.2.4 体外抗氧化实验

云南兔耳草总环烯醚萜苷的抗氧化能力见图 8,其对 DPPH、ABTS 的清除率具有剂量依赖性。浓度在 100 mg/mL 时,其对 DPPH 和 ABTS 的清除率分别为 77.51%、68.21%,对自由基的清除率低于  $V_C$ ,但其也具有一定抗氧化效果。

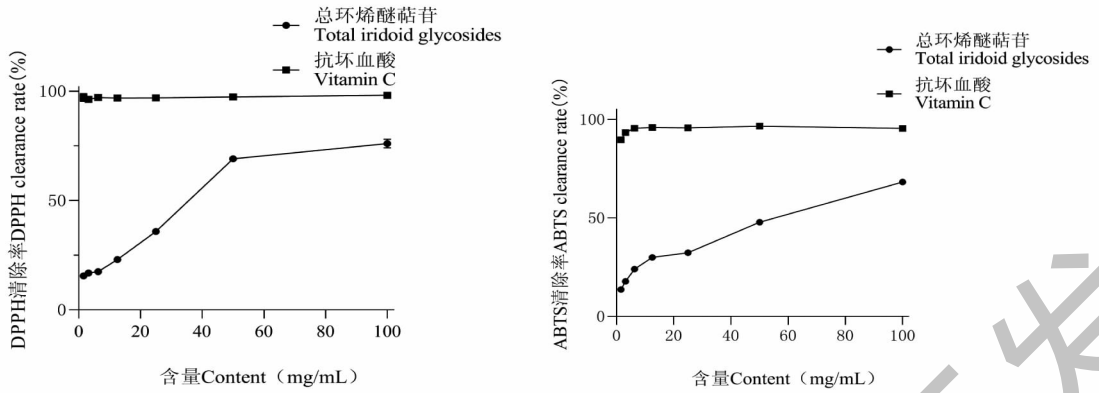


图8 云南兔耳草总环烯醚萜苷体外抗氧化活性( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Fig. 8 Antioxidant activity of total iridoid glycosides of *Lepidotis yunnanensis* in vitro ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

### 2.2.5 体外抗炎实验

如图9所示,当总环烯醚萜苷浓度在12.5~100  $\mu\text{g/mL}$  范围内,细胞活性没有明显改变,而总环烯醚萜苷浓度达到100  $\mu\text{g/mL}$  及以上浓度时,细胞存活率显著下降( $P < 0.01$ )。因此,为了保证后续实验的顺利进行,采用25~100  $\mu\text{g/mL}$  浓度的总环烯醚萜苷进行进一步实验。

一氧化氮合酶途径会被用于评估机体的炎症程度。过量的NO与超氧自由基反应,从而形成多种活性氮物质,引发炎症和氧化应激,加重了多种疾病的进展<sup>[11]</sup>,通过对NO的含量测定,当总环烯醚萜苷浓度在25  $\mu\text{g/mL}$  时NO水平表现出显著的下降,表示云南兔耳草总环烯醚萜苷具有一定的抗炎潜力(见图10)。炎症刺激会导致RAW 264.7细胞激活,然后分泌肿瘤坏死因子 $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )。TNF- $\alpha$  是细胞因子中的主要炎症介质,参与急性和慢性炎症的发展,当总环烯醚萜苷浓度在25  $\mu\text{g/mL}$  时TNF- $\alpha$

表达也得到明显的降低<sup>[12]</sup>。

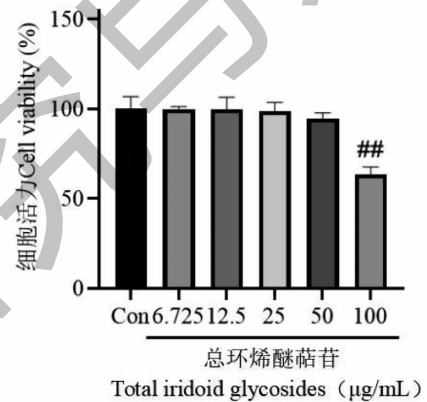


图9 总环烯醚萜苷对RAW 264.7细胞活力的影响( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Fig. 9 Effect of total iridoid glycosides on RAW 264.7 cell viability ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

注:与Con组比较, # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$ 。Note: Compared with Con group, # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$ 。

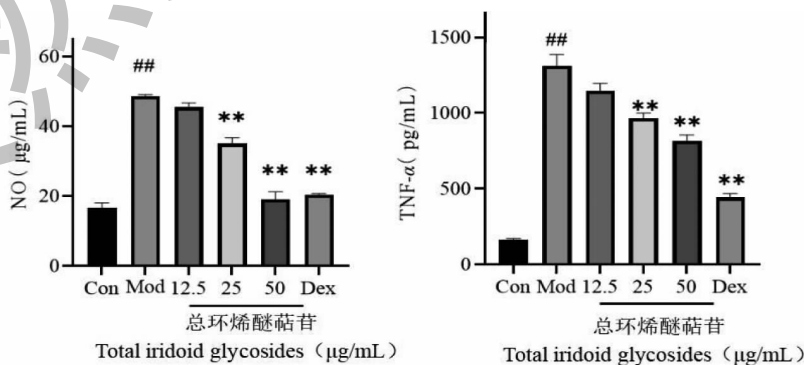


图10 总环烯醚萜苷对LPS诱导的RAW 264.7细胞NO和TNF- $\alpha$ 含量的影响( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Fig. 10 Effect of total iridoid glycosides on NO and TNF- $\alpha$  content in LPS induced RAW 264.7 cells ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

注:与Con组比较, # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$ ; 与Mod组比较, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ 。Note: Compared with Con group, # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$ ; Compared with Mod group, \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ 。

### 3 讨论及结论

环烯醚萜苷类化合物在云南兔耳草中大量存在,但由于其性质不稳定导致不适合高温提取,本研究采用了丙式提取法,通过紫外分光光度法测定云南兔耳草中总环烯醚萜苷的得率,利用响应面法对总环烯醚萜苷的提取条件进行了优化,得到最佳提取条件,此条件下总环烯醚萜苷的实际得率为10.56%,其测定方法简便、准确,优选出的最佳工艺条件预测模型结果相近,验证了该模型的可靠性。

通过 DPPH 及 ABTS 在体外测定云南兔耳草总环烯醚萜苷的抗氧化活性,表明其在 100 mg/mL 下具有较好的抗氧化效果,并且使用 LPS 诱导的 RAW 264.7 细胞进行了体外抗炎的研究,表明其具有抗炎作用的潜力,为云南兔耳草环烯醚萜苷类化合物的后续抗炎及药理研究提供支撑。

#### 参考文献

- 1 Editorial Committee of Chinese Flora. Flora of China(中国植物志)[M]. Beijing:Science Press,1979:336.
- 2 Yunnan Provincial Medicinal Materials Company. Directory of traditional Chinese Medicine resources in Yunnan(云南中药资源名录)[M]. Beijing:Science Press,1993:487-488.
- 3 Yang XD, Yang LJ, Yang S, et al. Study on identification of iridoid glucosides from *Lagotis yunnanensis* III [J]. Chin Pharm J(中国药学杂志),2007,42:658-660.
- 4 Yang XD, Zhao JF, Yang LJ, et al. Study on identification of iridoid glucosides from *Lagotis yunnanensis* [J]. Chin Pharm J(中国药学杂志),2004,39:28-30.
- 5 Yang XD, Yang LJ, Guo J, et al. Study on identification of iridoid glucosides from *Lagotis yunnanensis* II [J]. Chin Pharm J(中国药学杂志),2005,40:21-23.
- 6 Li CY, Wang RK, Zou MJ, et al. Study on flavonoid and iridoid glycoside contents of different extraction sites of *Lagotis integra* and its antioxidant and AChE inhibitory activities [J]. J Yang Univ: Nat Sci(扬州大学学报:农科版),2022,43:92-96.
- 7 He ZP, Wang SB, Hu BX, et al. Extraction process of iridoid glycosides based on response surface methodology [J]. Chin Agric Sci Bull(中国农学通报),2023,39:130-138.
- 8 Li L, Li HN, Yan HL, et al. Optimization of extraction process and antioxidant activity of total iridoid glycoside from *Centranthera grandiflora* by response surface methodology [J]. Chin Food Addit(中国食品添加剂),2021,32:18-25.
- 9 Yang Y. *In vitro* antioxidant activity and hypoglycemic effect of alcohol extract of *Chlorella* spp [J]. Light Text Ind Fujian(福建轻纺),2023,12:24-27.
- 10 Ruiying Yuan, Zhuoma Dongzhi, Wei Guo, et al. Hepatoprotective effect of *Sophora moorcroftiana* (Benth.) Benth. ex Baker seeds *in vivo* and *in vitro* [J]. Drug Chem Toxicol, 2022,45:2535-2544.
- 11 Zhang J, Ling Z, Qin TS, et al. Synthesis and anti-inflammatory activity evaluation for JAK3 inhibitors with the potency of inhibiting nitric oxide production [J]. Chem Reag(化学试剂),2024,46:114-120.
- 12 Xin NB, Ying BG, Miao P, et al. Anti-inflammatory effects of 6S-5-methyltetrahydrofolate-calcium on RAW 264.7 cells and zebrafish [J]. Life Sci,2023,327:121839.
- 13 (上接第35页)
- 18 Zhao YX, Chen YC, Gao M, et al. Comparative investigation of key aroma terpenoids of *Litsea cubeba* essential oil by sensory, chromatographic, spectral and molecular studies. [J]. LWT-Food Sci Technol,2023,176:114519.
- 19 Gilardoni G, Montalván M, Ortiz M, et al. The flower essential oil of *Dalea mutisii* Kunth (Fabaceae) from Ecuador: chemical, enantioselective, and olfactometric analyses. [J]. Plants-Basel,2020,9:1403-1403.
- 20 Hao S, Hui N, Feng C, et al. Effect of oxygen and heating on aromas of pummelo (*Citrus maxima*) essential oil [J]. J Essential Oil Res,2018,30:92-104.
- 21 Li LJ, Hong P, Chen F, et al. Characterization of the aldehydes and their transformations induced by UV irradiation and air exposure of white guanxi honey pummelo (*Citrus Grandis* (L.) Osbeck) essential oil [J]. J Agric Food Chem, 2016,64:5000-5010.
- 22 Ryota M, Atsushi U, Hiroshi N, et al. Characteristic odor components of essential oils from *Eurya japonica* [J]. J Oleo Sci,2015,64:577-584.
- 23 Bao CQ, Gu WB, Yang C, et al. Identification of key aroma components in 4 kinds of celery seed oleoresin by gas chromatography-mass spectroscopy-olfactometry [J]. J Food Safe Qual(食品安全质量检测学报),2023,14:204-210.