

山茱萸鲜果香气成分的 GC-MS 分析

胡劲光¹,刘延琳^{1,2},宋建强¹,张 莉¹

(1 西北农林科技大学 葡萄酒学院,陕西 杨凌 712100;2 陕西省葡萄与葡萄酒工程技术研究中心,陕西 杨凌 712100)

【摘 要】 【目的】检测新鲜山茱萸的香气成分,为山茱萸的开发利用提供参考依据。【方法】采用水蒸汽蒸馏-萃取法提取山茱萸新鲜果实的香气成分,用内标法对检测峰进行半定量分析,用气相色谱-质谱并结合计算机检索技术对分离化合物进行鉴定。【结果】山茱萸新鲜果实挥发性物质经气相色谱分离共得到 50 个峰,鉴定出 47 种香气物质,占总峰面积的97.3%,其中醇类、醛类、酸类分别为 16,6,6 种,分别占山茱萸鲜果香气成分总量的 27.12%,13.89%,9.11%;香气成分含量排在前 10 位的物质分别为:4-(2-羟乙基)酚、戊烯二酐、苯并噻唑、水杨酸甲酯、十一酸、间呋喃醛、对-(孟)-8-烯-3-醇、(Z)-3-己烯-1-醇、芳樟醇和 4-戊烯醛。【结论】醇类、醛类和羧酸类物质对山茱萸鲜果的香气有很大贡献。

【关键词】 山茱萸;香气成分;水蒸气蒸馏;GC-MS 分析

【中图分类号】 S282.71

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2009)01-0194-05

Analysis of aroma components in fruit of *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc by GC-MS

HU Jin-guang¹,LIU Yan-lin^{1,2},SONG Jian-qiang¹,ZHANG Li¹

(1 College of Enology, Northwest A&F University,Yangling, Shaanxi 712100,China;

2 Shaanxi Engineering Research Center for Viti-Viniculture,Yangling,Shaanxi 712100,China)

Abstract: 【Objective】 The research studied aroma characteristics in the fruits of *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc and expanded developing channels of the Cornus industry. 【Method】 The chemical constituents of the volatile compounds of *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc were extracted by steam distillation and analyzed by GC-MS,meanwhile their relative contents were determined by peak area normalization method and 2-Octanol was used to calculate the quantity of each components. 【Result】 50 compounds were separated and 47 of them were identified and determined, amounting to 93.7% of the total area of the peaks. The searching result indicated that the principal constituents in the volatiles were 4-HydroxyBenzeneethanol, Glutaconic anhydride, Benzothiazole, Methyl 2-hydroxybenzonate, Undecanoic acid, 3-Furaldehyde, p-Menth-1-en-8-ol, (Z)-Hex-3- en-1-ol, Linalool, 4-Pentenal. 【Conclusion】 The result revealed the relative aroma characteristics in the fruits of *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc.

Key words: *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc;aroma component;steam distillation(SD);GC-MS analysis

山茱萸(*Cornus officinalis* Sieb. et Zucc.)为山茱萸科山茱萸属植物,果实酷似枸杞,临床上常以其去核的成熟果实入药,具有补益肝肾、涩精固脱之

功效。山茱萸作为我国常用的 40 种名贵中草药之一,目前关于其化学成分和药理、药效作用已有大量研究报道^[1-4],但对其挥发性化学成分的报道却较

* [收稿日期] 2007-12-26
[基金项目] 西北农林科技大学人才支持计划项目(01140301)
[作者简介] 胡劲光(1982—),男,陕西西安人,在读硕士,主要从事葡萄酒和果酒质量研究。
[通信作者] 刘延琳(1966—),女,陕西富县人,教授,博士生导师,主要从事葡萄酒与酿酒微生物研究。
E-mail:lylsun@yahoo.com.cn

少,仅见关于干制山茱萸肉挥发油化学成分分析的研究^[5-7],尚未见对其新鲜果实挥发性化学成分进行分析的报道。本试验采用气相色谱-质谱(GC-MS)技术,对常规水蒸汽蒸馏(SD)法制备的山茱萸新鲜果实香气的化学组成进行了研究,以期如山茱萸的开发利用提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材 料

1.1.1 山茱萸 试验于 2007 年进行,成熟的山茱萸鲜果采自陕西省太白县桃川乡。

1.1.2 仪器与试剂 TRACE DSQ 气质联用仪(美国 Thermo Finnigan 公司生产);KD 浓缩器;二氯甲烷(AR);无水硫酸钠(AR);2-辛醇;氯化钠。

1.2 样品制备

参考文献[8-10]的方法制备样品。称取去核后的新鲜山茱萸果实 250 g,加蒸馏水 300 mL、氯化钠 10 g,匀浆后置于 2 L 圆底烧瓶中,加入 500 mL 蒸馏水、3 μ L 2-辛醇(0.789 g/L),置套式恒温加热器中加热。水蒸气连续蒸馏 3 h,冷阱收集流出液,分离有机相并用 50 mL 二氯甲烷萃取无机相。合并有机相,无水硫酸钠干燥,KD 浓缩仪在 30 $^{\circ}$ C 下浓缩至 1 mL,冷藏备用。

1.3 山茱萸鲜果香气成分的 GC-MS 分析

取制备好的样品进行 GC-MS 分析。气相色谱条件:DB-Wax 色谱柱(30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25

μ m);进样口温度为 250 $^{\circ}$ C,柱温箱起始温度 40 $^{\circ}$ C,保留时间 1.5 min,以 6 $^{\circ}$ C/min 升至 220 $^{\circ}$ C,保留 5 min;载气 He,恒流 1 mL/min;不分流进样 1 min,分流比 10:1。质谱条件:电离方式 EI,电离电压 70 V,离子源温度 250 $^{\circ}$ C,连接杆温度 220 $^{\circ}$ C,扫描范围:33~450 amu。

1.3.1 定性分析 果实挥发油经气相色谱分离形成其各自的色谱峰,用 GC-MS 联用仪进行分析鉴定。各组分质谱经计算机谱库(NIST/WILEY)检索及资料分析,进行人工谱图解析,确认香味物质的各种化学成分。

1.3.2 定量分析 以 2-辛醇为内标化合物(保留时间 12.88 min)进行半定量分析(校正因子为 1^[11-12]),计算待测组分的含量。每个样品做 3 次重复,结果取其平均值,计算公式如下:

挥发油各组分含量(mg/kg)=
$$\frac{\text{各组分的峰面积} \times \text{内标物的峰面积}}{\text{内标物浓度(mg/L)} \times \text{内标物体积}(\mu\text{L}) \times f} \times \frac{f}{\text{样品质量(kg)}}$$

式中: f 为各组分对内标物的校正因子

2 结果与分析

按上述分析条件对山茱萸果实的香气成分进行 GC-MS 分析,所得总离子流图如图 1 所示,其化学组分及半定量分析结果见表 1。

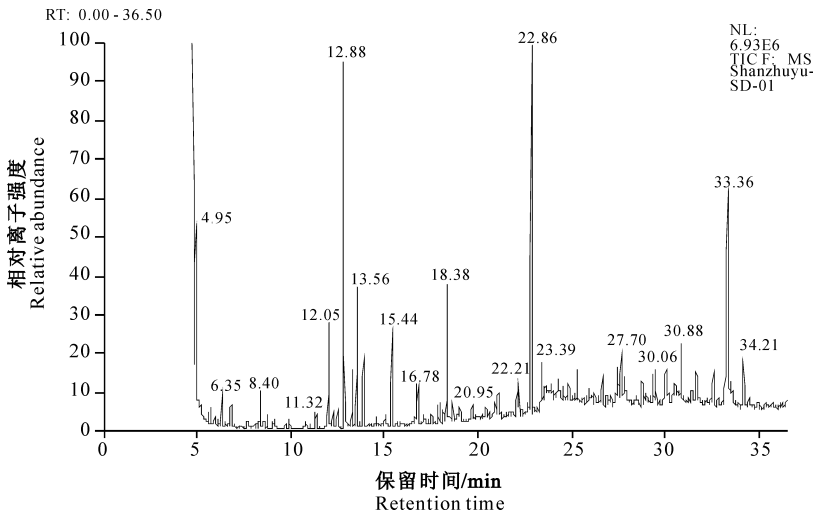


图 1 山茱萸鲜果香气的 GC-MS 总离子流图

Fig.1 GC-MS total ion chromatogram of aroma components in fruit of *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc.

表 1 山茱萸鲜果香气成分的 GC-MS 分析结果

Table 1 GC-MS analysis result of aroma components in fruit of *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc.

种类 Type	化合物名称 Component name	分子式 Molecular formula	相对分子质量 Molecular weight	含量/(mg·kg ⁻¹) Content
醇类 Alcohols	1-己醇 1-Hexanol	C ₆ H ₁₄ O	102	0.023
	4-异丙基-1-甲基-2-环己烯-1-醇 4-Isopropyl-1-methyl-2-cyclohexen-1-ol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	0.017
	(Z)-3-己烯-1-醇 (Z)-Hex-3-en-1-ol	C ₆ H ₁₂ O	100	0.225
	氧化沉香醇 Linalool oxide	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	170	0.141
	芳樟醇 Linalool	C ₁₀ H ₁₈ O	154	0.175
	对-(孟)-8-烯-3-醇 p-Menth-1-en-8-ol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	0.242
	2-氯代环戊醇 2-Chlorocyclopentanol	C ₅ H ₉ ClO	120	0.036
	(E)-2-己烯-1-醇 (E)-2-Hexen-1-ol	C ₆ H ₁₂ O	100	0.033
	2-辛醇 2-Octanol	C ₈ H ₁₈ O	130	0.947
	氧化芳樟醇 Linalool oxide	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	170	0.105
	戊基乙烯基原醇 Amyl vinyl carbinol	C ₈ H ₁₆ O	128	0.027
	3,7-二甲基-2,6-辛二烯-1-醇 3,7-Dimethyl-2,6octadien-1-ol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	0.043
	2-苯乙醇 Benzeneethanol	C ₈ H ₁₀ O	122	0.030
	库贝醇 Cubenol	C ₁₅ H ₂₆ O	222	0.039
	2-顺,顺-9,12-十八碳二烯酸双乙醇 2-cis,cis-9,12-Octadecadienyloxyethanol	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	310	0.076
醛类 Aldehydes	9,12-十八碳一醇 9,12-Octadecadien-1-ol	C ₁₈ H ₃₄ O	266	0.107
	4-戊烯醛 4-Pentenal	C ₅ H ₈ O	84	0.172
	己醛 Hexanal	C ₆ H ₁₂ O	100	0.017
	2-己烯醛 2-Hexenal	C ₆ H ₁₀ O	98	0.059
	壬醛 Nonanal	C ₉ H ₁₈ O	142	0.041
	间呋喃醛 3-Furaldehyde	C ₅ H ₄ O ₂	96	0.249
	a,4-二甲基-3-环己烯-1-乙醛 a,4-Dimethyl-3-cyclohexene-1-acetaldehyde	C ₁₀ H ₁₆ O	152	0.138
羧酸类 Acids	丁二酸 Butanedioic acid	C ₈ H ₁₄ O ₅	190	0.021
	十一酸 Undecanoic acid	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	186	0.250
	十八酸 Octadecanoic acid	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	0.037
	豆蔻酸 Tetradecanoic acid	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	228	0.158
	软脂酸 Hexadecanoic acid	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	0.147
	十二酸 Dodecanoic acid	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	200	0.091
酯类 Easters	乙酸丁酯 Butyl acetate	C ₆ H ₁₂ O ₂	116	0.014
	水杨酸甲酯 Methyl 2-hydroxybenzonate	C ₈ H ₈ O ₃	152	0.422
	乙基丁二酸单酯 Ethyl hydrogen succinate	C ₆ H ₁₀ O ₄	146	0.039
	邻苯二甲酸二异丁酯 Diisobutyl phthalate	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	278	0.060
杂环类 Heterocyclic compounds	2-甲基呋喃 2-Methylfuran	C ₅ H ₆ O	82	0.024
	苯并噻唑 Benzothiazole	C ₇ H ₅ NS	135	0.683
	2,3-二氢苯并呋喃 2,3-Dihydrobenzofuran	C ₈ H ₈ O	120	0.063
	氢-2,2,6-三甲基-6-乙烯基-2H-吡喃 Tetrahydro-2,2,6-trimethyl-6-vinyl-2H-pyran	C ₁₀ H ₁₈ O	154	0.069
酮类 Ketones	胡薄荷酮 p-Menth-4(8)-en-3-one	C ₁₀ H ₁₆ O	152	0.014
	2-甲基-4,6-辛二烯-3-酮 2-Methyl-4,6-octadiyn-3-one	C ₉ H ₁₀ O	134	0.011
	3,6-十九碳二酮 3,6-Nonadecadiene	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	296	0.048
酚类及其他 Phenols and Others	二叔丁对甲酚 Butylated Hydroxytoluene	C ₁₅ H ₂₄ O	220	0.038
	4-(2-羟乙基)酚 4-HydroxyBenzeneethanol	C ₈ H ₁₀ O ₂	138	0.938
	1-羟基-2-乙酰基-4-甲基苯 1-Hydroxy-2-acetyl-4-methylbenzene	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	0.101
	反-1,2-二氯环戊烯 Trans-1,2-Dichlorocyclopentane	C ₅ H ₈ Cl ₂	138	0.029
	对甲氧基苯乙烯 1-Etheny-4-methoxybenzene	C ₉ H ₁₀ O	134	0.029
	戊烯二酐 Glutaconic anhydride	C ₅ H ₄ O ₃	112	0.683
	7-氧甲基-2,6,6,8-四甲基三环[5.3.1.0]十一烷 7-Methoxy-2,4,8-tetramethyltricyclo undecane	C ₁₆ H ₂₈ O	236	0.055
	芴 Fluorene	C ₁₃ H ₁₀	166	0.063

由图1和表1可知,山茱萸鲜果挥发性物质经色谱分离可以得到50个峰,可以鉴定出其中的47种香气物质,占色谱峰总流出峰面积的97.3%。其中有醇类物质16种,占香气物质总量的27.12%;醛类物质6种,占香气总量的13.89%;羧酸类物质6种,占香气总量的9.11%;酯类物质4种,占香气总量的3.19%;杂环类物质4种,占香气总量的17.26%;酮类物质3种,占香气总量的1.49%;酚类及其他物质8种,占香气总量的27.93%。

由表1可知,山茱萸香气成分中含量较高的前10种物质是:4-(2-羟乙基)酚(0.938 mg/kg,占19.3%)、戊烯二酐(0.683 mg/kg,占14.06%)、苯并噻唑(0.683 mg/kg,占14.06%)、水杨酸甲酯(0.422 mg/kg,占8.68%)、十一酸(0.250 mg/kg,占5.15%)、间呋喃醛(0.249 mg/kg,占5.12%)、对-(孟)-8-烯-3-醇(0.242 mg/kg,占4.99%)、(Z)-3-己烯-1-醇(0.225 mg/kg,占4.62%)、芳樟醇(0.175 mg/kg,占3.59%)、4-戊烯醛(0.172 mg/kg,占3.55%)。

本试验结果与已报道^[5-7]的山茱萸干果挥发性成分的研究结果相比,有8种物质相同,分别为豆蔻酸、十八酸、邻苯二甲酸二异丁酯、乙基丁二酸单酯、2,3-二氢苯并呋喃、1-羟基-2-乙酰基-4-甲基苯、二叔丁对甲酚和氧化芳樟醇。已有报道中,山茱萸干果挥发性成分多为脂肪烃类非呈香物质^[6],而本试验得到的主要为醇类、醛类、羧酸类物质,对山茱萸鲜果香气有较大的贡献。

3 讨论

食品风味物质的鉴定,不仅对了解食品的化学组成有重要意义,而且对模拟食品的风味也有很大的实践意义。目前,食品风味物质分析常用的抽提方法主要有水蒸汽蒸馏-萃取法、溶剂萃取法、吹扫捕集法、液态CO₂或超临界流体抽提法、固相微萃取,其中由于水蒸汽蒸馏-萃取法和溶剂萃取法成本较低,设备简单,操作方便,而被广泛使用^[13]。与溶剂萃取法相比,水蒸气蒸馏-萃取法能有效提取果实中的挥发性成分^[9]。本试验中采用水蒸汽蒸馏-萃取法,简便易行,有利于山茱萸果实香气成分的萃取。

本试验采用水蒸汽蒸馏-萃取法,首次提取了山茱萸鲜果香气化学成分,用GC-MS法对香气组分进行了分析,并以2-辛醇为内标物,用半定量法检测了香气成分的含量。结果表明,共分离得到50个

峰,鉴定出47种香气物质,占总峰面积的97.3%。其中醇类物质16种,醛类和羧酸类物质各6种,酯类、杂环类物质各4种,酮类物质3种,酚类及其他物质8种。含量较高有4-(2-羟乙基)酚、戊烯二酐、苯并噻唑、水杨酸甲酯、十一酸、间呋喃醛、对-(孟)-8-烯-3-醇、(Z)-3-己烯-1-醇等。本研究结果为山茱萸鲜果化学成分的确和进一步开发利用提供了试验依据。

本试验得到的香气物质中,具有典型性的有(Z)-3-己烯-1-醇(花香、青香)、氧化沉香醇(新鲜的甜香、木香和花香)、芳樟醇(香料)、2-苯乙醇(香料)、十二酸(合成香料、食品添加剂)、壬醛(玫瑰型香精)和胡薄荷酮(香精香料)等,这几种物质很可能是山茱萸新鲜果实的特征香气成分。然而,特征香气组分都具有自己的味觉阈值,其鉴定必须有人体嗅觉感官分析的参与才能够完成,故上述几种物质到底是不是山茱萸新鲜果实的特征香气成分,仍有待于进一步深入研究。

[参考文献]

- [1] 何娟,王学斌,卢奎,等.山茱萸高效液相色谱指纹图谱的研究[J].河南工业大学学报:自然科学版,2006,27(4):32-39.
He J, Wang X B, Lu K, et al. Study on the fingerprint of *cornus officinalis* Sieb. et Zucc by HPLC [J]. Journal of Henan University of Technology: Natural Science Edition, 2006, 27(4): 32-39. (in Chinese)
- [2] 杨剑芳,路福平,高文远,等.山茱萸的化学、药理及开发应用研究进展[J].现代生物医学进展,2006,6(12):127-133.
Yang J F, Lu F P, Gao W Y, et al. Research and development of chemical compositions and pharmacology of *Cornus Officinalis* [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2006, 6(12): 127-133. (in Chinese)
- [3] 王宇华.参萸保健酒对小鼠机体免疫功能的调节作用[J].海峡药学,2006,18(6):38-40.
Wang Y H. Effects of ShenYu BaoJianJiu on immune function of mice [J]. Strait Pharmaceutical Journal, 2006, 18(6): 38-40. (in Chinese)
- [4] 王晓亚,张慧芳.山茱萸炮制的历史沿革及探讨[J].浙江中医学院学报,2006,30(1):98.
Wang X Y, Zhang H F. Exploration and historical evolution of dogwood fruit preparation [J]. Journal of Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, 2006, 30(1): 98. (in Chinese)
- [5] 李建军,杨冉,陈晓岚,等.山茱萸挥发油化学成分的GC-MS研究[J].中草药,2003,34(6):503.
Li J J, Yang R, Chen X L, et al. Analysis of the essential oils from *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2003, 34(6): 503. (in Chinese)
- [6] 韩志慧,曹文豪,李新宝,等.GC-MS分析山茱萸挥发油的化学

成分 [J]. 精细化工, 2006, 23(2): 130-132.

Han Z H, Cao W H, Li X B, et al. Analysis of chemical composition of essential oil in *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc by GC-MS [J]. Fine Chemicals, 2006, 23(2): 130-132. (in Chinese)

[7] 王学斌, 何 娟. 用 GC-MS 法观察 3 个不同产地山茱萸的挥发油成分 [J]. 分析测试技术与仪器, 2006, 12(2): 115-120.

Wang X B, He J. GC-MS analysis of volatile oils of *Cornus in* different producing areas [J]. Analysis and Testing Technology and Instruments, 2006, 12(2): 115-120. (in Chinese)

[8] 李 华, 王 华, 刘拉平, 等. 爱格丽白葡萄酒香气成分的 GC/MS 分析 [J]. 中国农业学报, 2005, 38(6): 1250-1254.

Li H, Wang H, Liu L P, et al. Analysis of aroma components of ecolly dry white wine by GC-MS [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2005, 38(6): 1250-1254. (in Chinese)

[9] 陈美霞, 陈学森, 周 杰. 蒸馏萃取法与溶剂萃取法提取杏果实香气成分的比较 [J]. 分析实验室, 2005, 24(3): 256-260.

Chen M X, Chen X S, Zhou J. Comparison of aroma components from apricot fruit obtained by steam distillation-extraction and solvent extraction [J]. Analytical Laboratory, 2005, 24(3): 256-260. (in Chinese)

[10] 陈美霞, 陈学森, 周 杰, 等. 杏果实不同发育阶段的香味组分及其变化 [J]. 中国农业科学, 2005, 38(6): 1244-1249.

Chen M X, Chen X S, Zhou J, et al. Changes of aroma constituents in apricot during fruit development [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2005, 38(6): 1244-1249. (in Chinese)

[11] Kliewer W, Wolpert A, Benz M. Trellis and vine spacing effect on growth, canopy microclimate, yield and fruit composition of Cabernet Sauvignon [J]. Acta Horticulture, 2000, 526: 21-32.

[12] Merle H, Verdeguer M, Blazquez M. Chemical composition of the essential oils from *eriocephalus africanus* L. var. *africanus* populations growing in Spain [J]. Flavour and Fragrance Journal, 2007, 22: 461-464.

[13] Sabulal B, Dan M, John A. Phenybutaniod-rich rhizome oil of *Zingiber neesanum* from Western Ghats, southern India [J]. Flavour and Fragrance Journal, 2007, 22: 521-524.

(上接第 193 页)

[6] 沈掌泉, 王 珂, 朱君艳. 叶绿素计诊断不同水稻品种氮素营养水平的研究初报 [J]. 科技通报, 2002, 18(3): 173-176.

Shen Z Q, Wang K, Zhu J Y. Preliminary study on diagnosis of the nitrogen status of two rice varieties using the chlorophyll meter [J]. Bulletin of Science and Technology, 2002, 18(3): 173-176. (in Chinese)

[7] 雷泽湘, 艾天成, 李方敏, 等. 草莓叶片叶绿素含量、含氮量与 SPAD 值间的关系 [J]. 湖北农学院学报. 2001, 21(2): 138-140.

Lei Z X, Ai T C, Li F M, et al. The relationships between SPAD readings and the contents of chlorophyll and nitrogen in Strawberry Leaves [J]. Journal of Hubei Agricultural College, 2001, 21(2): 138-140. (in Chinese)

[8] 唐延林, 王人潮, 张金恒, 等. 高光谱与叶绿素计快速测定大麦氮素营养状况研究 [J]. 麦类作物学报, 2003, 23(1): 63-66.

Tang Y L, Wang R C, Zhang J H, et al. Study on determining nitrogenous levels of barley by hyperspectral and chlorophyll meter [J]. Acta Tritical Crops, 2003, 23(1): 63-66. (in Chinese)

[9] 姜丽芬, 石福臣, 王化田, 等. 叶绿素计 SPAD2502 在林业上应用 [J]. 生态学杂志, 2005, 24(12): 1543-1548.

Jiang L F, Shi F C, Wang H T, et al. Application tryout of chlorophyll meter SPAD-502 in forestry [J]. Chinese Journal of Ecology, 2005, 24(12): 1543-1548. (in Chinese)

[10] Guler S, Buyuk G. Relationships among chlorophyll-meter reading value, leaf N and yield of cucumber and tomatoes [J]. Acta Horticulturae, 2007, 729: 307-311.

[11] Cho Y Y, Oh S B, Oh M M, et al. Estimation of individual leaf area, fresh weight, and dry weight of hydroponically grown cucumbers (*Cucumis sativus* L.) using leaf length, width, and SPAD value [J]. Scientia Horticulturae, 2007, 111(4): 330-334.

[12] Kim K R, Jeon Y S, Kim K H. Diagnosis of N, P and K status in cucumber leaves by test strips and chlorophyll meter [J]. Horticultural Science, 2002, 43(2): 159-162.

[13] 汤章成. 现代植物生理学实验指导 [M]. 北京: 科学出版社, 1999: 145-167.

Tang Z C. The Direction of modern experiment on plant physiology [M]. Beijing: Press of Science, 1999: 145-167. (in Chinese)

[14] 杜应琼, 王富华, 李乃坚, 等. 新鲜蔬菜硝酸盐含量测定的改进试粉法 [J]. 园艺学报, 2005, 32(1): 49-53.

Du Y Q, Wang F H, Li N J, et al. A improved testing powder method for rapidly determining nitrate content in fresh vegetable [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2005, 32(1): 49-53. (in Chinese)

[15] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法 [M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1999: 587-588.

Lu R K. The method of soil and agrochemical analysis [M]. Beijing: Press of scientific agricultural technology, 1999: 587-588. (in Chinese)