

莳萝籽精油成分及消除亚硝酸钠研究

陆占国, 李 伟, 封 丹

哈尔滨商业大学食品工程学院, 哈尔滨 150076

摘要: 采用水蒸汽蒸馏法提取莳萝籽, 以 2.1% 得油率获得精油, 用 GC-MS 联机对精油进行了成分分析, 检测出 20 种成分, 解析鉴定了占精油 97.136% 的 18 个成分。主要成分相对含量分别为香芹酮 54.587%, 柠檬烯 18.492%, 芹脑 11.949%。精油的消除 NaNO_2 测定结果可知: 当精油用量为 0.25 mL 时, 消除率最大为 78.4%。对水蒸汽蒸馏后的残渣用甲醇、乙醇以及丙酮萃取物分别进行萃取, 萃取物收率分别为甲醇 4.2%、乙醇 2.3% 和丙酮 3.3%; 萃取物的消除 NaNO_2 测定结果可知: 当萃取物溶液为 0.4~1.0 mL 时, 清除率分别为: 甲醇 36.0%~39.6%, 乙醇 30.5%~36.5%, 丙酮 51.8%~55.8%。

关键词: 莳萝籽; 精油; 气相色谱-质谱法; 亚硝酸钠; 提取物

中图分类号: Q946.91; R282.71; TQ656.1 文献标识码: A

Study on Chemical Components of Dill Seeds Essential Oil and Ability of Scavenging Sodium Nitrite

LU Zhan-guo, LI Wei, FENG Dan

School of Food Engineering Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China

Abstract The dill seeds essential oil was obtained from the dill seeds by steam distillation extraction method in 2.1% yield. Then the oil was analyzed by GC-MS, 20 constituents were detected and 18 compounds which occupied 97.136% of total constituents were identified. The relative contents of the main components were carvone 54.587%, limonene 18.492% and apin 11.949%. The ability of scavenging sodium nitrite of the essential oil was studied and the result indicated that the maximum scavenging rates was 78.4% when 0.25 mL of the oil was used. The residue was extracted by methanol, ethanol and acetone, and the yields of the extracts were 4.2%, 2.3% and 3.3%, respectively. The capacity of the scavenging sodium nitrite of the extracts were also studied, the result showed that the scavenging rates of the methanol, ethanol and acetone extracts of the residue were 36.0%~39.6%, 30.5%~36.5% and 51.8%~55.8%, when 0.4~1.0 mL of the extract solutions was used, respectively.

Key words Dill seeds; essential oil; GC-MS; sodium nitrite; extract

莳萝为伞形科植物, 学名 *Anethum graveolens* L., 英文名为 Dill, 亦称土茴香、草茴香。全株芳香, 原产于地中海沿海地区及印度、埃及等地。我国在唐代时从丝绸之路传入, 现在我国东北、西北、华南均有分布。莳萝果实可作调味料, 特别大量用于中式香肠制作, 是香肠中香辛料的主要成分; 还有预防呼吸道传染疾病和治疗头痛和失眠症功效。还可以萃取芳香精油用于食用香精, 或用于解除胃痛痉挛、改善睡眠^[1]。

另外, 众所周知, 亚硝酸钠被用于并存在于很多

蔬菜、腌制品中。亚硝酸盐可以与大量存在于食物中以及食物在体内代谢过程中产生的仲胺或叔胺在人体胃液条件下结合, 容易生成化学致癌物质亚硝基化合物 NDMA (N-Nitrosodimethylamine, N-亚硝基二甲胺): $(\text{CH}_3)_2\text{NH} + \text{NaNO}_2 + \text{HCl} \rightarrow (\text{CH}_3)_2\text{N-N}=\text{O} + \text{NaCl} + \text{H}_2\text{O}$

作者^[2,3]曾经就芫荽籽和茎叶精油的消除亚硝酸钠的作用进行了研究, 发现芫荽籽精油、茎叶精油以及籽的残渣萃取物都具有消除亚硝酸钠作用。在此基础上, 本研究采用水蒸气蒸馏法萃取莳萝籽获得精油, 用 GC-MS 分析精油成分; 对萃取后的残渣用有机溶剂再一次萃取获得萃取物, 对获得的精油和残渣萃取物进行消除亚硝酸钠作用研究, 为莳萝籽精油的有效利用提供参考。

收稿日期: 2008-10-08 接受日期: 2009-01-07

基金项目: 黑龙江省自然科学基金 (B200510)

* 通讯作者 Tel: 86-451-83070154; E-mail: lzg@hbcu.edu.cn

1 材料与方法

1.1 仪器与材料

蒴萝籽从哈尔滨市香辛料市场购入(产地广西),经哈尔滨商业大学药学院金哲雄教授鉴定。茴香脑(广西万山香料有限责任公司,GC纯度99.6%)。

GC6890N/MS5973N型气相色谱/质谱联用仪(Agilent);SE-54毛细管色谱柱(30 m × 0.25 mm × 0.4 μm,大连中汇达科学仪器有限公司);721分光光度计(上海第三分析仪器厂)。

1.2 实验方法

1.2.1 蒴萝籽精油的提取

称取粉碎蒴萝籽200 g加入2000 mL蒸馏水进行蒸馏,馏出液冷凝收集,然后用乙醚萃取,萃取液以无水硫酸钠干燥后,过滤,滤液用旋转蒸发器除去乙醚获得精油,该精油用于GC-MS分析和消除亚硝酸钠作用测定。

1.2.2 分析条件

GC分析条件:进样口温度250℃,初始温度60℃,以3℃/min速率升温至150℃,再以10℃/min速率升温到220℃,保留30 min,精油进样量0.5 μL,分流比60:1。MS分析条件:电离方式EI,电离电压70 eV,离子源温度260℃,质量扫描范围30~600 amu。

1.2.3 残渣提取

将水蒸气蒸馏后的蒴萝籽进行减压抽滤分离水分得到残渣,将其置于95℃恒温干燥箱中干燥至恒重。然后,称取20.00 g残渣放入250 mL锥形瓶中,加入100 mL有机溶剂(甲醇、乙醇或丙酮任意一种)。在恒温水浴振荡器中(40℃,100 r/min)震荡萃取24 h,减压抽滤,滤液用旋转蒸发器浓缩至真空干燥完全除去溶剂得到干燥萃取物,用下式计算收率:

$$\text{萃取物收率}(\%) = \frac{\text{干燥萃取物质量}(\text{g})}{20 \text{ g}} \times 100\%$$

干燥萃取物再分别用甲醇、乙醇、丙酮溶解调制5% (g/mL)溶液,用于消除亚硝酸钠作用。

1.2.4 消除亚硝酸钠作用^[2,3]

用上述获得的精油和配制成0.04% (g/mL)茴香脑乙醇溶液以及萃取物溶液,参照文献^[2,3]方法,测定不同用量精油、茴香脑以及萃取物溶液的清除亚硝酸钠反应液吸光度值,用消除率大小评价消除

亚硝酸钠作用。具体操作如下:

将0.5 mol/L的柠檬酸钠-盐酸缓冲液(pH 3.0)5.0 mL置于10 mL容量瓶中,加入1 mL 100 mg/kg的NaNO₂溶液,再分别加入所定用量的精油、茴香脑或者萃取物样液,定容至刻度,37℃下反应1 h。取1 mL反应液于50 mL容量瓶中,加入0.4% (质量分数)的对氨基苯磺酸溶液2 mL,0.2% (质量分数)N-1-萘乙二胺盐酸盐1 mL,摇匀放置15 min后,用分光光度计在540 nm处测吸光度值,用下式计算清除率。

$$\text{清除率} = (A_0 - A_x) / A_0 \times 100\%$$

式中,A₀为不加精油或者萃取物溶液的空白试验的吸光度值;A_x为不同用量精油或者萃取物溶液的清除亚硝酸钠反应液的吸光度值。

2 结果与讨论

2.1 精油提取和分析结果

用水蒸气蒸馏法对粉碎后的蒴萝籽进行萃取,以2%产率获得浅黄色芳香气息精油,(气相色谱分析溶剂残留为0.5%)。GC-MS分析得到GC-MS总离子流谱图1。由图1可知,共检测出20个成分,利用NIST98质谱数据库进行对照解析并参考文献,解析鉴定了占精油97.136%的18个成分。采用峰面积归一化法计算精油中各成分相对含量,结果列于表1。

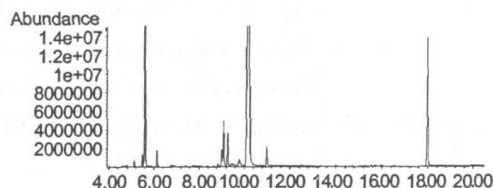


图1 蒴萝籽精油的GC-MS总离子流图

Fig. 1 Total ion current chromatogram of dill seeds essential oil

水蒸汽蒸馏所得蒴萝籽精油基本是由单萜类化合物组成,占总精油的83.187%。主要成分相对含量大小顺序为:香芹酮54.587%、柠檬烯18.492%、芹菜脑11.949%、二氢香芹酮3.663%,四者总共占总精油含量的88.691%,对蒴萝籽精油的特征香气贡献最大。

关于蒴萝籽挥发油的化学成分国外已有一些研究。土耳其学者Muberra等人^[4]和Kurkcuglu等人^[5]用水蒸汽蒸馏方法获得不同产地蒴萝籽果实精油的主要成分香芹酮和柠檬烯含量分别为52.2%

表 1 苜蓿籽精油的解析结果
Table 1 Analytical results of dill seeds essential oil

保留时间 <i>t_R</i> (min)	化合物 Compound	分子式 Molecular formula	相似度 Similarity (%)	相对含量 Relative content(%)
4.042	α -Pinene α -蒎烯*	C ₁₀ H ₁₆	96.0	0.092
4.834	β -Pinene β -蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	91.8	0.095
5.160	2,6-Dimethyl,3,5,7-octatriene (<i>E</i>)-2,6-二甲基-1,3,5,7-辛四烯*	C ₁₀ H ₁₄	86.6	0.430
5.522	<i>p</i> -Cymene 对伞花烃*	C ₁₀ H ₁₄	94.0	0.814
5.626	Limonene 柠檬烯*	C ₁₀ H ₁₆	94.0	18.492
5.688	Eucalyptol 桉叶油素*	C ₁₀ H ₁₈ O	89.6	0.439
6.161	γ -Terpinene γ -松油烯*	C ₁₀ H ₁₆	93.4	1.041
6.781	Benzene 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-4-(甲基乙烯基)甲苯*	C ₁₀ H ₁₂	95.0	0.164
7.801	Limonene oxide 1,2-环氧柠檬烯*	C ₁₀ H ₁₆ O	87.5	0.083
8.869	3,6-Dimethyl-2,3,3a,4,5,7a-hexahydrobenzofuran 3,6-二甲基-2,3,3a,4,5,7a-六氢苯并呋喃*	C ₁₀ H ₁₆ O	95.4	0.233
9.029	Dihydrocarveol 二氢香芹醇*	C ₁₀ H ₁₈ O	97.0	1.383
9.103	Dihydrocarvone 二氢香芹酮*	C ₁₀ H ₁₆ O	99.0	3.663
9.281	Unknown 未知	—	—	2.536
9.477	Unknown 未知	—	—	0.328
9.576	Carveol 香芹醇*	C ₁₀ H ₁₆ O	90.0	0.368
9.803	Neodihydrocarveol 新二氢香芹醇*	C ₁₀ H ₁₈ O	92.6	1.303
10.245	Carvone 香芹酮*	C ₁₀ H ₁₄ O	95.6	54.587
11.007	Anethole 茴香脑	C ₁₀ H ₁₂ O	93.2	1.765
12.548	3-Allyl-6-methoxyphenol 3-烯丙基-6-甲氧基苯酚	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	98.0	0.235
18.021	Apiol 芹菜脑	C ₁₂ H ₁₄ O ₄	94.0	11.949

注: * 为萜类化合物。

和 40.4% 以及 20.5% 和 23.5%。印度的 Gurdip 等人^[6]也采用同样水蒸汽蒸馏法提取获得的印度产精油主要成分香芹酮和柠檬烯含量分别为 55.2% 和 16.6%。乌兹别克斯坦的 Yili 等人^[7]用水蒸汽蒸馏方法萃取了中国新疆产苜蓿果实,其主要化学成分为 n-Pentacosane(27.96%)和 Dioctyl 1,2-diphenyl carboxylic acid ester(25.10%)。国内方面,金育忠等人^[8]用水蒸汽蒸馏法提取甘肃产苜蓿籽得精油的主要成分香芹酮和柠檬烯含量分别为 40.37% 和 12.64%。与文献对比可知,本研究的苜蓿果实精油的主要成分香芹酮和柠檬烯含量与印度产相近,比国内甘肃产较高,也与新疆产截然不同。其它成分各地相差较大。

2.2 残渣提取结果

为了使天然植物资源得到有效充分地利用,对通常提取完精油后的残渣液进行了再利用研究探讨,也就是在水蒸汽蒸馏获得精油后,分别用甲醇、

乙醇、丙酮对残渣再一次萃取,得到溶剂萃取物,其收率分别为:甲醇 4.2%、乙醇 3.1%、丙酮 3.3%。甲醇的收率最高,乙醇和丙酮相近。由此可知,同样的原料,不同溶剂萃取物产率不同,这与溶剂的极性,溶质在溶剂中的溶解性有很大关系。

2.3 对 NaNO₂ 的清除作用

2.3.1 精油对 NaNO₂ 的清除作用

精油用量对 NaNO₂ 的清除作用测定结果显示在图 2,由图 2 可知:苜蓿果实精油也具有显著的清除亚硝酸钠作用。最初,对 NaNO₂ 的清除作用随着精油的用量增加而增加,当用量达到 0.25 mL 时,清除作用最大为 78.4%。当用量继续增大,清除作用不再增加。与作者以往的研究比较可知,比同样伞形科的芫荽籽精油(0.25 mL 用量时,62.1%)的消除作用高^[3]。由上述成份解析可知:精油是多组分混合物,主要由各种萜类化合物组成,萜类化合物占精油的 83.18%,可以认为萜类化合物对清除

NaNO_2 起到了重要作用,但是,哪种关键成分作用较大需要进一步的研究探讨。为了比较,还用了精油成分之一的茴香脑作为阳性对照物进行测定,从图2中可知,茴香脑也具有明显的清除活性,其清除率随用量增加而增加,当用量达到0.25 mL是清除率达到最大78.4%。在用量0.10 mL以上时,莳萝籽精油的清除亚硝酸钠能力相近。

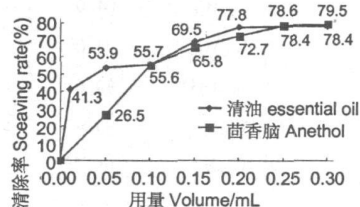


图2 莳萝籽精油用量对 NaNO_2 的清除作用影响

Fig. 2 Scavenging capacity of dill seeds essential oil against NaNO_2

2.3.2 残渣提取结果与 NaNO_2 的清除作用

分别用相应的萃取溶剂调配成的5%的溶液进行消除亚硝酸钠清除作用测定结果显示在由图3中。由图3可知,在用量较小时,萃取物随用量增加对 NaNO_2 的清除率也随之增加。当提取物溶液用量为0.4 mL时,三种溶剂萃取物的清除率分别为丙酮51.8%、甲醇36.0%、乙醇30.5%;继续增加溶液用量,增加幅度减小,清除率仅有小幅度提高。由图看出,三种溶剂萃取物对 NaNO_2 清除能力大小顺序为:丙酮>甲醇>乙醇,当用量为0.4~1.0 mL时,清除率分别为丙酮51.8%~55.8%,甲醇36.0%~39.6%,乙醇30.5%~36.5%。不同的溶剂得到萃取物消除作用不同,也证明成份不同。

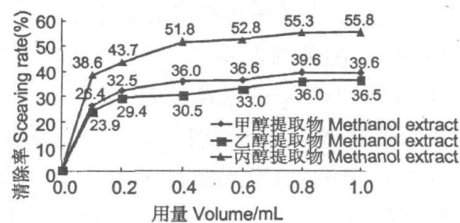


图3 莳萝籽残渣提取物对亚硝酸钠的清除作用

Fig. 3 Scavenging capacity of the extracts of the residue against NaNO_2

如前所述,挥发性成分集中的精油和溶剂萃取得到的非挥发性集中的萃取物均具有消除亚硝酸钠的作用。究竟哪些成分是各自的活性成分以及精油和5%萃取物溶液的清除作用大小比较也有待今后

进一步研究。

3 结论

由以上研究结果可知,哈尔滨市售莳萝籽用水蒸气蒸馏法可获得2.1%精油产率,通过GC-MS分析,明确了主要成分;蒸馏后残渣用甲醇、乙醇以及丙酮分别进行萃取,可以4.2%、2.3%和3.3%收率获得萃取物。进行消除亚硝酸钠作用研究结果可知,精油和残渣有机溶剂萃取物都具有明显的清除作用。当精油用量0.25 mL时,消除率达最大为78.4%。通过研究可知,精油成分之一的茴香脑也具有明显的清除作用。以茴香脑作为阳性对照物,在本研究条件下精油与茴香脑具有相近的清除作用。残渣的甲醇、乙醇以及丙酮萃取物溶液用量为0.4~1.0 mL时,清除率分别为甲醇36.0%~39.6%,乙醇30.5%~36.5%,丙酮51.8%~55.8%。溶剂不同得到的萃取物产率和消除亚硝酸钠作用不同,说明成分有所不同。在本条件下残渣萃取物的清除能力小于精油和茴香脑。关于精油以及萃取物有效成分以及清除机理还有待进一步研究。通过本研究进一步明确了在食品中添加莳萝籽以及芫荽籽这样的香辛料,对防止亚硝酸钠与胺类化合物结合生成致癌物质NDMA具有积极作用,对莳萝籽的有效利用和防癌保健方面具有一定意义。

参考文献

- 1 Xu ZX(徐昭玺). Cultivation of 100 Kinds of Seasonings Spices, Aromatic and Medical Plant(百种香辛料栽培). Beijing: China Agricultural Press, 2002.
- 2 Lu ZG(陆占国), Guo HZ(郭红转), Li W(李伟). Extraction of coriander leaf essential oil by soxhlet method and components analysis and scavenging effect of sodium nitrite. *Food Sci*(食品科学), 2007, 28(7): 29-32.
- 3 Lu ZG(陆占国), Feng D(封丹), Li W(李伟). Analysis of chemical components of the coriander seeds essential oil and its ability of scavenging sodium nitrite. *Fine Chem*(精细化工), 2008, 25: 482-485.
- 4 Muberra K, Tene O, Fath G, et al. Comparison of microwave assisted hydrodistillation and hydrodistillation methods for the analysis of volatile secondary metabolites. *Pharmaceutical Biology*, 2005, 43: 491-495.
- 5 Kurucuoglu M, Sargin N, Baser KHC. Composition of volatiles obtained from spices by microdistillation. *Chemistry of Natural Compounds*, 2003, 39: 355-357.

(下转第505页)

的氮转化为尿素,使 BUN 升高。其含量随体力负荷增加而增加,机体对负荷适应力越差,其增加越明显。实验中中、高剂量组能够显著降低血液中 BUN 含量。

3.2 鸭胚肽对小鼠耐缺氧的影响

缺氧影响机体各种代谢,特别是机体的氧化功能,最终导致心、脑等重要器官供氧供能不足而死亡,小鼠在缺氧环境中存活时间越长表示对缺氧的耐受力越强^[5]。本实验中给予鸭胚蛋多肽的各试验组小鼠在缺氧环境中存活时间均长于对照组,但效果不显著。

亚硝酸钠可使血红蛋白变成高铁血红蛋白,失去携带氧的功能,最终会导致机体心、脑等重要器官、组织供氧不足而死亡^[6]。本研究显示,鸭胚蛋多肽能明显延长亚硝酸钠中毒存活时间,推测鸭胚蛋多肽可能缓解并延长细胞外液缺氧,使细胞利用氧的效率提高,增加红细胞血红蛋白含量,从而延长中毒存活时间。

在急性脑缺血性缺氧状态下,鸭胚蛋多肽可能通过提高机体组织氧的利用率,增加有氧氧化酶的活性,提高机体的带氧和供氧能力,并可能通过降低耗氧量、耗氧速度,清除自由基或减少自由基对血管内皮的损伤来实现抗缺氧作用,从而延长断头后喘气停止时间。

综上,鸭胚多肽能够显著提高小鼠抗疲劳、耐缺氧能力;同时对于延缓小鼠衰老也有一定的作用。有很高的开发利用价值。同时,尚需进一步探讨鸭

胚多肽对提高抗疲劳、耐缺氧能力作用的机制及其剂量关系。从而可以为下一步鸭胚蛋保健功能食品的开发提供依据。

参考文献

- 1 Gong W (宫玮), Zhang PZ (张培正). Determination of free sex hormones in cherry vale duck embryo by HPLC. *Food and Ferment Indus* (食品与发酵工业), 2007, 33 (5): 115-119
- 2 Huang HX (黄红霞), Peng GH (彭光华), Zhang SH (张声华). Effects of the natural red yolk eggs of ducks on antifatigue function and hypoxia tolerance in rats. *Acta Nutri Sinica* (营养学报), 2005, 27: 521-522
- 3 Tian ZJ (田振军), Shi L (石磊), Liu XJ (刘小杰), et al. Changes of serum CK, LDH, SOD, SDH and UMB in the overtraining rats. *Chin J Sports Med* (中国运动医学杂志), 2000, 19: 49.
- 4 Nakatani A, Han DH, Hansen PA, et al. Effect of endurance exercise training on muscle glycogen supercompensation in rats. *J Appl Physiol* 1997, 82: 711-715.
- 5 Luo XD (罗翔丹), Pan FG (潘风光), Zhang TH (张铁华), et al. Effects of pilose antler polypeptide on ability of mice antrianoxia and antifatigue. *Food Sci* (食品科学), 2008, 29: 386-388.
- 6 Chen YM (陈玉满), Chen H (陈红), Mao GM (毛光明), et al. Study on antihypoxia effect of *Rhodiola sachalinensis* A. Bor. *Chin J Health Lab Tech* (中国卫生检验杂志), 2007, 17: 1494-1495.
- 7 Gurdip S, Sumitra M, Lampasona MP, et al. Chemical constituents, antimicrobial investigations, and antioxidative potentials of *Anethum graveolens* L. essential oil and acetone extract part 52. *Journal of Food Science*, 2005, 70 (40): 208-215.
- 7 Yili A, Yinamu H, Maksimov VV, et al. Chemical composition of essential oil from seeds of *Anethum graveolens* cultivated in china. *Chemistry of Natural Compounds* 2006, 42: 491-492.
- 8 Jin YZ (金育忠), Shi CS (石长栓), Wang YJ (王玉洁), et al. Study on chemical components of dill seeds essential oil. *Flavour Fragrance Cosmetics* (香料香精化妆品), 1995, (4): 9-12.

(上接第 482 页)

- 6 Gurdip S, Sumitra M, Lampasona MP, et al. Chemical constituents, antimicrobial investigations, and antioxidative potentials of *Anethum graveolens* L. essential oil and acetone extract part 52. *Journal of Food Science*, 2005, 70 (40): 208-215.
- 7 Yili A, Yinamu H, Maksimov VV, et al. Chemical composition of essential oil from seeds of *Anethum graveolens* cultivated in china. *Chemistry of Natural Compounds* 2006, 42: 491-492.