

孜然精油成分分析及超临界萃取联合分子蒸馏纯化效果研究

胡雪芳, 戴蕴青, 李淑燕, 陈芹芹, 姜 莎, 曹 阳, 倪元颖*

(中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

摘 要: 利用超临界联合分子蒸馏技术提取纯化孜然精油, 采用 GC-MS 和双柱复检法对孜然精油的挥发性成分进行定性分析, 通过质谱库检索联合保留指数法分析, DB-5 柱上共鉴定出 44 种组分, INNO-WAX 柱上共鉴定出 39 种组分, 其中 20 种组分在两只柱子上共同存在。以正十二烷为内标物建立了用毛细管气相色谱法同时测定孜然油中主要呈香物质(β -蒎烯、对伞花烃、 γ -蒎烯、枯茗醛)的方法。结果表明, 在所选择的色谱条件下, 4 种芳香物质的峰面积与其质量浓度呈良好的线性关系, R^2 均大于 0.9996。经过分子蒸馏纯化后, 孜然精油主要成分枯茗醛的含量由纯化前的 11.48% 提高到 30.30%, 纯化效果理想。

关键词: 分子蒸馏(MD); 内标标准曲线法; 定性; 定量; 芳香成分

Essential Oil of *Cuminum cyminum* L.: Extraction by Super Critical Fluid Extraction, Purification by Molecular Distillation and GC-MS Analysis of Volatile Composition

HU Xue-fang, DAI Yun-qing, LI Shu-yan, CHEN Qin-qin, JIANG Sha, CAO Yang, NI Yuan-ying*

(College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Abstract: Purified essential oil of *Cuminum cyminum* L. was obtained using supercritical carbon dioxide followed by molecular distillation and was analyzed for volatile composition by GC-MS and double column identification. Totally 44 and 39 components were identified in essential oil of *Cuminum cyminum* L. using DB-5 and INNO-WAX columns, respectively, and 20 components were simultaneously identified using both columns. A quantification method for four major aromatic components including β -pinene, *p*-cymene, γ -terpinene and cuminal was established using dodecane as an internal standard substance. The above aromatic components all exhibited a good linear relationship between peak area and concentration, with determination coefficients (R^2) of more than 0.9996. Purification by molecular distillation resulted in an obvious increase from 11.48% to 30.30% of the content of cuminal, which is responsible for the characteristic aroma of *Cuminum cyminum* L.

Key words: molecular distillation (MD); internal standard method; qualitative and quantitative analysis; aromatic components

中图分类号: TS207.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2010)06-0230-05

孜然, 学名孜然芹(*Cuminum cyminum* L.), 又称安息茴香, 是伞形科孜然芹属一年生草本植物, 其呈味物质主要存在于果实的挥发油部分。据《中华本草》记载, 孜然种子中含有 2%~5% 的挥发油, 主要含有蒎烯类、芳香族醛、酮醚类物质, 其主要成分之一——枯茗醛具有多种生理功能。

孜然作为一种重要的天然香料和药用植物, 越来越

受到人们的重视。目前, 国内外对孜然油提取技术及成分方面也进行了不少的研究, 提取手段主要有水蒸气蒸馏法、同时蒸馏萃取法、超临界萃取法及有机溶剂萃取法等。而上述提取手段对产品品质都会有不同程度的影响, 如水蒸气法中由于原料与水蒸气长时期接触, 有些脆弱的香气成分易遭破坏分解; 溶剂法会造成溶剂残留而影响产品安全性; 而超临界法由于其特殊的萃取

收稿日期: 2009-05-21

作者简介: 胡雪芳(1983—), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品天然产物提取与功能性性质。

E-mail: xuefang1002@126.com

* 通信作者: 倪元颖(1960—), 女, 教授, 硕士, 研究方向为天然产物提取与功能性食品开发。E-mail: niyuany@163.com

体系,在得到精油部分的同时,种子中的一些油脂及色素等也会被提出。孜然精油定量分析研究中采用最多的方法为面积归一化法,但仅适用于全部组分均可流出色谱柱,并且在检测器上有响应的分析对象。由于孜然油的组成十分复杂,很难完全满足上述条件,因此,采用面积归一化法进行定量分析可能会造成显著的误差。

分子蒸馏(MD)技术是一种新型的用于液-液分离的高新技术,它根据分子运动平均自由程的不同,实现对混合组分的分离,由于它是一个纯物理的方法,并且在高真空度下进行,分离温度很低,因此特别适合于分离高挥发度、高相对分子质量、高沸点、高黏度、热敏性和具有生物活性的物料,例如从米糠中提取二十八烷醇、葡萄籽油中提取脂肪酸和VE以及油菜籽油中提取VE等^[1-3]。分子蒸馏在香辛料方面已开展了广泛的研究,如对广藿香油、山苍子油、八角精油、大蒜精油、地椒挥发油等进行除杂纯化^[4-8]。

本研究采用超临界萃取联合分子蒸馏法提取纯化孜然精油,最大程度地保证了产品的纯天然特性;并利用GC-MS联合双柱定性法,对其中的主要香气成分进行反复筛选,采用内标标准曲线法对孜然油中主要呈香物质 β -蒎烯、对伞花烃、 γ -蒎烯、枯茗醛进行定量分析,最终得到对孜然精油中核心香气成分比较客观的分析结果;通过比较纯化前后孜然精油的特征香味物质——枯茗醛的含量,评价分子蒸馏纯化技术对孜然精油的纯化效果。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

孜然种子由新疆农业科学院提供,储藏于-4℃冰柜中。

枯茗醛(4-isopropylbenzaldehyde)、 γ -蒎烯(γ -terpinene)、对伞花烃(p-cymene)、 β -蒎烯(β -pinene)、4-苯基-1-丁烯-4-醇(4-phenyl-1-buten-4-ol)、藏花醛(safranal)、正十二烷(dodecane)、正己烷(色谱级)标准品 Sigma-Aldrich 公司。

HA-121-50-02型超临界CO₂流体萃取装置 江苏南通华安超临界萃取有限公司;GC-14C气相色谱仪 日本岛津公司;分子蒸馏仪 美国Pope公司;GC6890/MS5973型气相色谱-质谱联用仪 美国安捷伦公司;BP221S电子天平 德国Sartorius公司;5 μ L微量进样器 苏格兰HAMILTON Microliter syringes公司。

1.2 方法

1.2.1 超临界萃取法提取孜然油树脂

首先将1kg粉碎至40目的孜然粉末均匀填置在萃取釜内,CO₂经净化后进入冷凝箱冷凝至流体,经高压计量泵加压至35MPa、加热器加热至40℃后,进入萃取

釜内萃取2.5h,溶有孜然油树脂的CO₂经减压阀进入分离器,压力下降至6MPa,CO₂汽化,孜然油树脂析出并沉积于分离釜底部经放油阀门放出收集,CO₂气体进入储罐内与来自钢瓶的CO₂汇合,它在整个装置中密闭循环利用。所得产品为深棕色粘稠液体,得率为13.56%,用于下一步分子蒸馏纯化。

1.2.2 分子蒸馏纯化孜然精油

首先将350g孜然油树脂装入进料瓶,脱气工序完成后关闭脱气阀,将料液温度加热到35℃,打开进料阀并调节流量为1~2滴/s,固定冷凝面温度10℃,蒸发面温度70℃,体系真空度120Pa,进行短程分子蒸馏纯化,所得馏出物(精油部分)及馏余物分别通过收集瓶收集,精油得率为35.14%。分子蒸馏装置见图1。

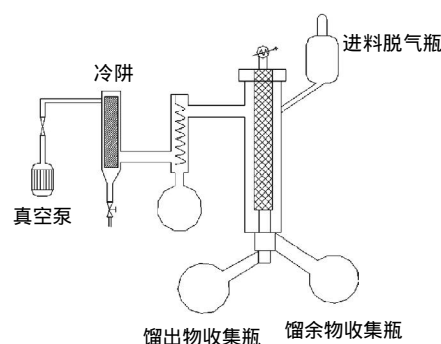


图1 分子蒸馏装置

Fig.1 Schematic diagram of a molecular distillation device used in this study

1.2.3 孜然油芳香成分GC-MS定性分析条件

定性分析采用气相色谱-质谱联用仪。载气为高纯氦气,流速1mL/min;柱前压52.6kPa;分流比20:1,质谱接口温度250℃;采用EI离子源,电子能量70eV,离子源温度200℃。应用双柱定性法对孜然油进行组分分析。

柱1:安捷伦DB-5毛细管柱(30.0m×0.25mm,0.25 μ m)。气相色谱条件:进样口温度250℃;检测器温度290℃;升温程序为40℃保持2min,以4℃/min的速率升到140℃,再以6℃/min的速率升到270℃,保持10min。定量分析采用DB-5毛细管柱进行。

柱2:安捷伦INNO-WAX毛细管柱(30.0m×0.25mm,0.25 μ m)。气相色谱条件:进样口温度250℃;检测器温度270℃;升温程序为40℃保持2min,以4℃/min的速率升到72℃,再以10℃/min的速率升到100℃,然后以4℃/min的速率升到130℃并保持5min,最后以6℃/min的速率升到240℃/min,保持10min。

1.2.4 孜然油主要芳香成分定量分析

分子蒸馏纯化前后定量分析使用气相色谱仪。选取

1.2.3 节中柱 1 即 DB-5 毛细管柱及其分析条件, 采用内标标准曲线法测定。

1.2.4.1 混标溶液的配制

本部分主要考察孜然油芳香成分的主要组成物质 β -蒎烯、对伞花烃、 γ -蒈品烯、枯茗醛的含量。准确称取适量的 β -蒎烯、对伞花烃、 γ -蒈品烯、枯茗醛标准品, 用正己烷配制成质量浓度分别为 3.7000、1.0860、2.5300、5.5200mg/mL 的混标溶液, 充分摇匀备用。

1.2.4.2 内标溶液的配制

准确称取 28.5mg 正十二烷标准品于 10mL 容量瓶中, 用正己烷配成质量浓度为 2.85mg/mL 的内标溶液。

1.2.4.3 标准曲线测定溶液的配制

准确量取混标母液 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0mL 于 6 个 10mL 容量瓶中, 各加入 1mL 内标溶液用正己烷定容, 其中 4 种标准品的质量浓度梯度见表 1。

表 1 4 种标准品的质量浓度梯度

Table 1 Concentration gradients of four aromatic components for preparation of standard curves

浓度梯度	标准品质量浓度/(mg/mL)			
	β -蒎烯	对伞花烃	γ -蒈品烯	枯茗醛
1	0.1850	0.0543	0.1265	0.2760
2	0.3700	0.1086	0.2530	0.5520
3	0.7400	0.2172	0.5060	1.1040
4	1.1100	0.3258	0.7590	1.6560
5	1.4800	0.4344	1.0120	2.2080
6	1.8500	0.5430	1.2650	2.7600

1.2.4.4 待测样品制备

准确称取纯化前后孜然精油各 0.1550g 分别于 2 个 50mL 容量瓶中, 各精密加入内标溶液 1mL, 用正己烷定容。配成质量浓度为 3.1mg/mL 的待测样品溶液。

以上所有溶液均在测定前现用现配。

2 结果与分析

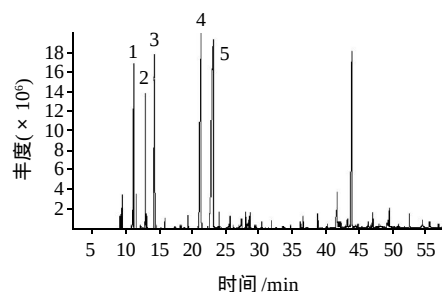
2.1 定性分析

取孜然油树脂 2.00g 溶于 20mL 的正己烷中, 配成 0.1g/mL 的溶液, 取 0.5 μ L 进行 GC-MS 分析得总离子流图(图 2、3)。采用保留指数法, 通过 NIST2002 质谱库提供的标准谱图对照, 选取匹配度大于 90% 的鉴定结果, DB-5 柱上共鉴定出 44 种物质, INNO-WAX 柱上共鉴定出 39 种物质, 其中 20 种组分在两只柱子上共同存在(表 2), 由此推断这 20 种组分可能是孜然精油的主要组成部分。另有一个组分(图 2、3 中的未知成分)在两根柱子上都出现(先将其命名为“第 5 号组分”), 选取匹配度较高的两种物质 4-苯基-1-丁烯(72%)和藏花醛(64%)与其进行标准品核对, 结果并非这两种物质, 鉴于它的含量很高, 可能对孜然香气及生理特性有很大贡献。

表 2 孜然精油组分分析

Table 2 Volatile composition of essential oil of *Cuminum cyminum* L. determined using DB-5 and INNO-WAX column respectively

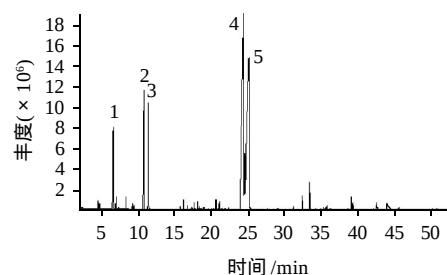
序号	组分	保留时间/min		相对含量/%	
		DB-5	INNO-WAX	DB-5	INNO-WAX
1	α -蒎烯	9.5846	4.7148	0.6970	0.2413
2	β -侧柏烯	11.0976	11.5976	0.8620	0.5381
3	β -蒎烯	11.3404	6.7364	8.2330	4.7101
4	β -月桂烯	11.7302	8.4766	0.738	0.4569
5	α -水芹烯	12.3288	8.3381	0.079	0.0409
6	对伞花烃	13.1003	11.5202	4.4923	4.0018
7	D-柠檬烯	13.2262	9.3424	0.301	0.1923
8	β -水芹烯	13.2782	9.5978	0.2200	0.1145
9	桉油精	13.3389	9.5329	0.1680	0.1314
10	γ -蒈品烯	14.4531	10.8922	9.2910	7.6221
11	($\pm$)-4-蒈品醇	18.9054	18.7448	0.0490	0.0928
12	对异丙基苯酚	20.9517	19.0435	0.0760	0.0938
13	枯茗醛	21.4373	20.6885	22.0200	28.4378
14	未知	23.2214	25.212	27.06	30.5912
15	枯茗醇	23.7896	26.2497	1.0948	2.3512
16	1,4-环己二烯-1- 甲醇, 4-(1-甲基乙基)-	24.1382	22.3811	0.424	0.1715
17	石竹烯	27.0645	24.4243	0.0910	0.4997
18	反式- β -合欢烯	28.0746	32.4543	0.5890	0.4219
19	β -甜没药烯	29.6137	35.8786	0.0620	0.1387
20	枯茗酸	27.4821	44.0819	0.6400	0.7136



1. β -蒎烯; 2. 对伞花烃; 3. γ -蒈品烯; 4. 枯茗醛; 5. 未知成分。

图 2 DB-5 柱孜然挥发油总离子流谱图

Fig.2 Total ion current chromatogram of essential oil of *Cuminum cyminum* L. obtained using column DB-5 column



1. β -蒎烯; 2. γ -蒈品烯; 3. 对伞花烃; 4. 枯茗醛; 5. 未知成分。

图 3 INNO-WAX 柱孜然挥发油总离子流谱图

Fig.3 Total ion current chromatogram of essential oil of *Cuminum cyminum* L. obtained using column INNO-WAX column

孜然精油成分的种类和含量因为产地、提取方法和GC-MS分析条件等的不同而有很大的差异。Behera等^[9]比较了传统加热法和微波加热法对印度产孜然油化学成分的影响,并通过GC-MS技术,结合保留指数法,鉴定出24种成分,其中含量最高的为1,4-对孟二烯-7-醛,其次为枯茗醛;Li等^[10]提取分析了中国产孜然的化学组成,共鉴定出37种成分,其中枯茗醛(36.31%)、枯茗醇(16.92%)、藏花醛(10.87%)为其主要组成物质;Jalali等^[11]采用GC-MS联合化学计量学分辨技术分析爱尔兰产孜然,共鉴定出30种物质,主要组成成分为2-甲基-3-苯基-丙醛(32.27%)、 γ -萜品烯(15.82%)和桃金娘烯醛(11.64%);国内对孜然精油及挥发油成分也进行了不少研究^[12-16],成分鉴定结果也不尽相同。本研究定性结果表明,孜然精油含量最高的为“第5号组分”和枯茗醛,同样是分析中国产孜然精油,与文献[2]、[16]的鉴定结果有一定区别。

值得提出的是,孜然油成分分析主要是利用GC-MS和保留指数法进行定性,此法虽可快捷地鉴定出化合物,但结果并非完全可靠,尤其是对于植物精油,由于其中存在大量的同分异构体、结构相似的萜烯类物质,相同的离子碎片很多,对于这种情况GC-MS的结果有时完全错误,两者结果相符也只能反映初步鉴定结果。为了确证,用标准样品对照是必要的。从这个角度看,真正获得可靠的定性结果并不是轻而易举的^[17]。

2.2 标准曲线的确定

在1.2.3节中柱1色谱条件下进行分析测定,按照表1,4种标准品的每个质量浓度梯度连续进样3次,计算相应标准品与内标物的平均峰面积比值,RSD分别为2.2%、1.5%、0.9%、1.3%。以标准品与内标物的质量浓度比为纵坐标(y),相对应的标准品与内标物的峰面积比为横坐标(x),进行线性回归分析,并根据信噪比 $R_{SN}=3$ 测定计算最低检测质量浓度。结果见表3。实验结果表明, R^2 均在0.9996以上,说明在测定的质量浓度范围内,FID的响应与4种标准品的质量浓度呈高度线性相关。

表3 线性测定结果

Table 3 Regression equations, linear ranges, determination coefficients of four aromatic components

标准品	线性范围/(mg/mL)	回归方程	判定系数 R^2	检出限/(mg/L)
β -蒎烯	0.1850~1.8500	$y=0.8785x+0.0245$	0.9998	1.0
对伞花烃	0.0543~0.543	$y=0.8130x+0.0196$	0.9998	1.0
γ -萜品烯	0.1265~1.265	$y=0.9208x+0.0209$	0.9998	1.0
枯茗醛	0.2760~2.7600	$y=1.1879x-0.0344$	0.9996	0.5

2.3 精密度及含量测定

表4 含量测定结果

Table 4 Reproducibility test for determination of four aromatic components by the method

组分	测定值/%						平均值/RSD/%	
	1	2	3	4	5	6	%	%
β -蒎烯	5.11	5.16	5.16	5.22	5.16	5.17	5.16	0.70
对伞花烃	1.49	1.45	1.49	1.48	1.49	1.47	1.48	0.92
γ -萜品烯	4.99	4.86	5.00	4.99	4.90	4.94	4.95	1.14
枯茗醛	11.30	11.63	11.42	11.74	11.37	11.41	11.48	1.49

取纯化前待测样品溶液,连续重复进样6次。测定结果、平均值及相对标准偏差见表4。结果表明,被测组分的相对标准偏差均小于3.0%,方法重现性良好。

2.4 分子蒸馏纯化前后4种主要成分含量比较

表5 分子蒸馏纯化前后主要组分含量比较

Table 5 Comparison of contents of four aromatic components in essential oil of *Cuminum cyminum* L. before and after molecular distillation

	β -蒎烯		对伞花烃		γ -萜品烯		枯茗醛	
	纯化前	纯化后	纯化前	纯化后	纯化前	纯化后	纯化前	纯化后
绝对含量(AC, %)	5.16	5.99	1.48	2.13	4.95	4.21	11.48	30.30
相对含量(RC, %)	8.23	6.81	4.49	3.37	9.29	5.02	22.02	31.69
RSD/%	32.42	1.40	71.30	4.49	43.10	2.96	44.49	3.17

注:AC(absolute content),通过内标标准曲线法测得;RC(relative content),峰面积百分比法所得。

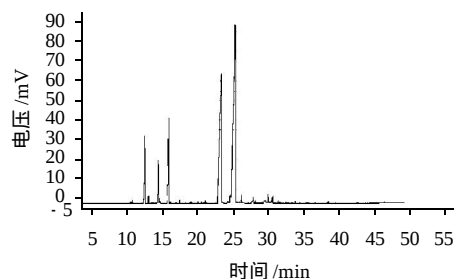


图4 馏出物气相色谱图

Fig.4 Gas chromatogram of distillates

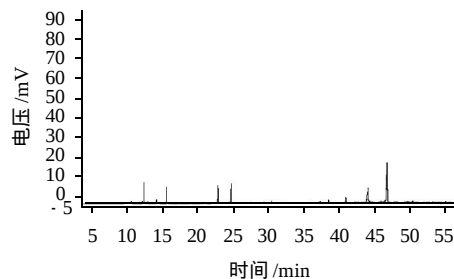


图5 馏余物气相色谱图

Fig.5 Gas chromatogram of residues

取纯化后待测样品溶液进行气相色谱定量分析,连续重复进样3次取其平均值,并与纯化前4种主要成分

含量进行了比较, 所得结果见表 5。可以看出, 分子蒸馏纯化前, 面积归一化法与内标法测定结果差异非常显著, 这是因为经过超临界萃取的孜然油树脂中很多组分如油酸、亚油酸以及一些高碳链的脂肪烃等, FID 对其响应值非常低, 所以在这种情况下面积归一化法的定量结果会有很大的误差。分子蒸馏纯化后, 孜然精油主要成分枯茗醛的含量由纯化前的 11.48% 提高到 30.30%, 馏出物(精油部分)与馏余物的气相色谱图比较如图 4、5 所示, 可以看出, 馏余物中的 β -蒎烯、对伞花烃、 γ -蒎烯、枯茗醛等主要物质的含量明显下降, 并且面积归一化法与内标法测定结果的相对标准偏差显著降低, 这从一定意义上说明经过分子蒸馏纯化工工艺后, 孜然油树脂中的绝大部分油脂等重组分被脱去, 所得孜然精油成分基本上为可挥发组分, 可以全部流出色谱柱并在 FID 上均有响应。

3 结论与讨论

3.1 本研究应用超临界萃取联合分子蒸馏法提取纯化孜然精油, 产品由纯化前粘稠的深棕色油树脂变为流动性好的金黄色透明液体, 并具有浓郁的孜然特征香气; 超临界萃取得率为 13.56%, 分子蒸馏纯化得率为 35.14%。

3.2 建立了以正十二烷为内标物的内标标准曲线法测定孜然油中主要呈香物质(β -蒎烯, 对伞花烃, γ -蒎烯, 枯茗醛)的方法, 应用所得标准曲线测定目标组分含量, 所得相对标准偏差均小于 3.0%, 方法重现性良好。

3.3 通过对孜然精油芳香物质的定性定量研究得出孜然中主要的呈香物质为 β -蒎烯、对伞花烃、 γ -蒎烯、枯茗醛以及一种未鉴定出的成分(“第 5 号组分”)。根据其提取方法比较, 出峰位置、相对保留时间及保留指数等色谱数据对照, 推断“第 5 号组分”可能为 1,4-对孟二烯-7-醛或者 1,3-对孟二烯-7-醛, 也可能是两者的共流峰, 但是目前市场上还没有这两种物质的标准品, 因此无法得到可靠的结果。鉴于它是孜然精油的主要组成成分, 因此, 下一步研究计划的重点内容就是对“第 5 号组分”进行单体制备及结构鉴定。

3.4 由于超临界特殊的萃取体系, 孜然油除存在大量的芳香成分外, 还存在一定量的油脂等如油酸、亚油酸、酯类及高碳链的正构烷烃等。据研究^[18], 孜然种子的总油脂量约为干品的 14.5%, 总油脂中含有 84.8% 的

中性油脂、10.1% 糖脂和 5.1% 磷脂。因此除其芳香成分外, 孜然油脂方面也有很高的开发价值。

参考文献:

- [1] CHEN F, CAI T, ZHAO G, et al. Optimizing conditions for the purification of crude octacosanol extract from rice bran wax by molecular distillation analyzed using response surface methodology[J]. Journal of Food Engineering, 2005, 70(1): 47-53.
- [2] MARTINELLO M, HECKER G, CARMEN P M. Grape seed oil deacidification by molecular distillation: analysis of operative variables influence using the response surface methodology[J]. Journal of Food Engineering, 2007, 81(1): 60-64.
- [3] SHAO P, JIANG S, YING Y. Optimization of molecular distillation for recovery of tocopherol from rapeseed oil deodorizer distillate using response surface and artificial neural network models[J]. Food and Bioproducts Processing, 2007, 85(2): 85-92.
- [4] 胡海燕, 彭劲甫, 黄世亮, 等. 分子蒸馏技术用于广藿香油纯化工艺的研究[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(4): 376-379.
- [5] 黄敏, 钟振声. 分子蒸馏纯化天然香料山苍子油[J]. 食品科技, 2005(8): 52-54.
- [6] 王琴, 蒋林, 温其标, 等. 分子蒸馏纯化八角精油的工艺研究[J]. 林产化学与工业, 2007, 27(3): 76-80.
- [7] 毕艳红, 乔旭光, 田云. 分子蒸馏技术分离纯化大蒜精油的研究[J]. 食品与发酵工业, 2007, 33(5): 153-157.
- [8] 谷雨龙, 倪健, 翟小玲, 等. 地椒挥发油分子蒸馏精制工艺初步研究[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(18): 1940-1941.
- [9] BEHERA S, NAGARAJAN S, JAGAN M R L. Microwave heating and conventional roasting of cumin seeds (*Cuminum cyminum* L.) and effect on chemical composition of volatiles[J]. Food Chemistry, 2004, 87: 25-29.
- [10] LI R, JIANG Z T. Chemical composition of the essential oil of *Cuminum cyminum* L. from China[J]. Flavour and Fragrance Journal, 2004, 19: 311-313.
- [11] JALALI H M, ZEKA VAT B, SERESHTI H. Use of gas chromatography-mass spectrometry combined with resolution methods to characterize the essential oil components of Iranian cumin and caraway[J]. Journal of Chromatography A, 2007, 1143: 215-226.
- [12] 阎建辉, 唐课文, 钟明, 等. 气相色谱-质谱法测定孜然挥发油的化学成分[J]. 色谱, 2002, 20(6): 569-572.
- [13] 郑福平, 孙宝国, 谢建春. 微波加热吹气吸附法提取/气-质联机分析孜然挥发油[J]. 食品科学, 2006, 27(11): 441-443.
- [14] 刘玉梅. 超临界 CO₂ 萃取新疆孜然油的成分分析[J]. 武汉植物学研究, 2000, 18(6): 497-499.
- [15] 彭奇均, 孙培冬. 孜然香气成分分析的样品制备方法研究[J]. 分析测试学报, 1997, 16(6): 23-26.
- [16] 陆占国, 封丹, 李伟. 孜然精油成分以及对亚硝酸钠的消除作用研究[J]. 食品科学, 2009, 30(1): 28-30.
- [17] 刘虎威, 唐颖, 黄爱今, 等. 关于毛细管气相色谱与质谱或保留值配合定性问题[J]. 色谱, 1996, 14(5): 331-333.
- [18] 胡林峰. 孜然杀菌活性成分研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2005.