

芹菜籽挥发油化学成分及其降低亚硝酸钠活性分析

祁伟,董岩*

(德州学院,山东省高校配位化学与功能材料重点实验室,山东德州 253023)

摘要:采用超临界二氧化碳萃取法(SFE-CO₂)提取芹菜籽挥发油;用气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)对芹菜籽挥发油化学成分进行分离鉴定,共分离出36种化学成分,鉴定的27种化合物占挥发油总含量的99.72%,含量最高的物质为柠檬烯(33.08%),其次分别为N,N'-1,2-二苯基乙酰胺(23.04%), γ -榄香烯(14.96%),2-氯-1-(3,4-二甲基苯基)-2-甲基-1-丙酮(6.01%),N,N'-二乙酰基-1,4-苯二胺(5.73%),石竹烯(3.51%)等;利用紫外分光光度计计算芹菜籽挥发油对亚硝酸钠的清除率,实验结果显示芹菜籽挥发油可以明显的清除亚硝酸钠,当挥发油用量为40 μ L时,清除率最大为89.80%。

关键词:芹菜籽,挥发油,超临界萃取,亚硝酸钠

Analysis of chemical constituents of volatile oils from celery seeds and the effect on the activity of sodium nitrite reduction

QI Wei, DONG Yan*

(Key Laboratory of Coordination Chemistry and Functional Materials in Universities of Shandong, Dezhou University, Dezhou 253023, China)

Abstract: Volatile oils from celery seeds were extracted by SFE-CO₂ technique. And its chemical constituents were identified by GC-MS. 36 constituents were separated from volatile of celery seeds. And 27 compounds were identified which accounts for 99.72%, the content of limonene in the volatile oil of celery seed was the highest (33.08%), the other chemical constituents were acetamide, N,N'-1,2-phenyleneb (23.04%), γ -elemene (14.96%), 1-propanone, 2-chloro-1-(2,5-dimethylphenyl)-2-methyl- (6.01%), N,N'-diacetyl-1,4-phenylenediamine (5.73%), caryophyllene (3.51%), The removal rate of essential oil of celery seed on sodium nitrite was calculated by ultraviolet spectrophotometer. Results showed that the volatile oils of celery seeds were able to scavenge sodium nitrite efficiently. Maximum removal rate was 89.80%, when the amount of volatile oils was 40 μ L.

Key words: celery seeds; volatile oil; SFE-CO₂; sodium nitrite

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2013)10-0089-04

芹菜是伞形花科旱芹属植物,世界各地均有栽培,有较高的食用价值,芹菜丰富的纤维素有助于改善肠道功能,还可治黄疸、去伏热^[1];芹菜籽可用于治疗高血压、关节炎、类风湿关节炎、肾病等疾病^[2];芹菜籽有良好的抗氧化、抗肿瘤、抑菌、杀虫等生物活性^[3]。亚硝酸盐广泛存在于自然界环境和食物中,在体内亚硝酸盐会转化为亚硝胺,亚硝胺是目前世界上公认的三大强致癌物之一,能通过胎盘和乳汁引发后代肿瘤,它可以在人体中合成,是一种很难完全避开的致癌物质。对于芹菜籽挥发油化学成分的研究已有报道^[3-7],但对于其挥发油去除亚硝酸钠的作

用未见报道。由于芹菜籽产地不同,品种不同,提取方法不同,挥发油的化学成分有比较大的区别。本文采用SFE-CO₂技术首次对山东德州产芹菜籽提取挥发油,利用GC-MS对其化学成分进行分离鉴定,并研究了芹菜籽挥发油对亚硝酸钠的清除作用,为进一步开发和利用芹菜籽的药用价值提供科学的依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

芹菜籽 采摘于德州郊区;无水对氨基苯磺酸、N-1-萘乙二胺盐酸盐、亚硝酸钠、磷酸二氢钠、柠檬酸、盐酸(36%~38%) 分析纯。

HP-GC-5890-5970BMSD型色谱-质谱联用仪 美国Hewlett Packard公司;超临界CO₂萃取装置 美国Applied separations公司;UV-2450型紫外分光光度计 日本岛津公司。

1.2 芹菜籽挥发油的提取

收稿日期:2012-11-29 * 通讯联系人

作者简介:祁伟(1979-),女,讲师,主要从事天然药物化学方面的研究。

基金项目:德州学院校级课题一般项目(311374);山东省自然科学基金(ZR2010BL015)。

将干燥的芹菜籽10g装入超临界萃取釜中,调整萃取压力为20MPa,萃取温度为50℃,萃取2h,挥发油萃取率为0.93%,最后得到淡黄色透明油状液体,有很浓的特殊香味。将提取出的芹菜籽挥发油放在冰箱内冷藏,以备后续实验使用。

1.3 气相色谱-质谱分析条件

1.3.1 气相色谱条件 色谱柱为HP-5MS石英毛细管柱(30m×0.25mm×0.25μm),初始温度为65℃保持2min,毛细管柱采用程序升温,升温速率5℃/min至240℃,保持20min,进样口温度250℃,载气为高纯氮气流速为1.2mL/min,分流比20:1,气化室及检测器的温度均为300℃。

1.3.2 质谱分析条件 EI离子源,电离能量70eV,离子源温度180℃,质量扫描为50~550aum。

1.4 芹菜籽挥发油清除亚硝酸钠研究

用手动可调式移液器取0、20、40、60、80、200μL芹菜籽挥发油置于25mL容量瓶中,分别加入5μg/mL的NaNO₂标准溶液1mL,用柠檬酸钠-盐酸缓冲溶液调节pH等于3,加入蒸馏水至刻度,室温下反应1h后,取1mL上述溶液置于50mL容量瓶中立即加入2mL 0.4%对氨基苯磺酸溶液,混匀,静置3~5min后,加入1mL 0.2%盐酸萘乙二胺溶液,加水至刻度,混匀,静置15min,以蒸馏水为空白,在544nm处测吸光度。

$$\text{清除率}(\%) = \frac{M_1 - M_2}{M_1} = \frac{A_2 - A_1}{A_2} \times 100$$

式中: M₁-原亚硝酸盐的量; M₂-残余亚硝酸盐的量; A₁-残余亚硝酸盐溶液的吸光度; A₂-原亚硝酸盐溶液的吸光度。

2 结果与分析

2.1 芹菜籽挥发油化学成分GC-MS分析

取适量的芹菜籽挥发油,以无分流方式进样,进行GC-MS分析,得总离子流图,共分离出36个化学成分,结果见图1,经GC-MS计算机的NIST库自动检索,并查阅相关文献与标准图谱对照分析^[8-9],鉴定了27种化学成分,用面积归一化法计算出其相对含量,结果见表1。

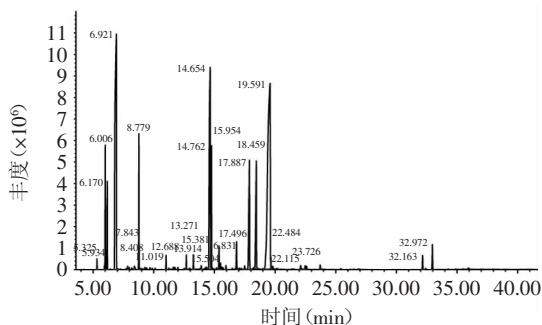


图1 芹菜籽挥发油的总离子流图

Fig.1 Total ion chromatogram of the volatile oil from celery seeds

从表1可以看出,用GC-MS从芹菜籽挥发油中共鉴定出27种化合物,占挥发油总含量的99.72%,含量最高的物质为柠檬烯(33.08%),其次分别是N,N'-

1,2-二苯基乙酰胺(23.04%),γ-榄香烯(14.96%),2-氯-1-(3,4-二甲基苯基)-2-甲基-1-丙酮(6.01%),N,N'-二乙酰基-1,4-苯二胺(5.73%),石竹烯(3.51%)等,都是该挥发油的主要成分。

实验检测出的芹菜籽挥发油的多种化学成分都具有一定的医药价值。例如检测出的柠檬烯具有良好的镇咳、祛痰、抑菌作用,复方柠檬烯在临床上可用于利胆、溶石、促进消化液分泌和排除肠内积气^[10-11];榄香烯具有抗癌作用^[12];石竹烯可以制作食用香精,也可以合成乙酰基石竹烯等更有价值的香料^[13];因此对于芹菜籽挥发油的有效成分还有待继续研究。

2.2 芹菜籽挥发油清除亚硝酸钠结果分析

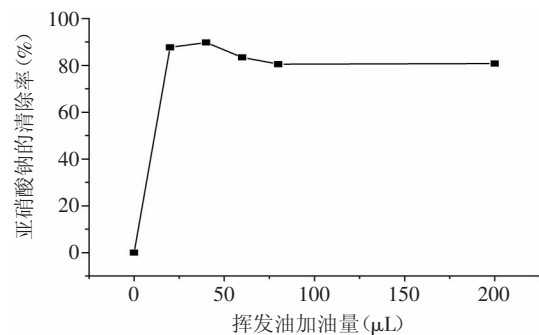


图2 芹菜籽挥发油对亚硝酸的清除作用

Fig.2 Effect of celery seed essential oil on scavenging sodium nitrite

从图2可以看出当挥发油加入量小于20μL时,随挥发油加入量的增加,清除率迅速增加,因为此时加入的挥发油量较少,挥发油能充分溶解在溶液中,完全和亚硝酸钠反应,所以清除率增长很快,挥发油加入量在20~40μL之间时,清除率依然增长,但是增长速率下降,当挥发油加油量为40μL时,清除率达到最大值89.8%,当进一步增加挥发油的加油量时,清除率有所下降,原因可能是挥发油加入量多,没能完全溶解,挥发油和溶液接触面反而减小,反应率降低,导致清除率降低。挥发油是多种化学成分的混合物,到底是哪一种或者哪几种化学成分和亚硝酸钠反应,起到清除亚硝酸钠的作用,详细反应机理目前还不得知,这表明芹菜籽挥发油清除亚硝酸钠的反应机理还有待于研究。

3 结论

本文采用SFE-CO₂法提取了芹菜籽的挥发油,利用GC-MS技术对芹菜籽的挥发油化学成分进行分离鉴定,共分离出了36种化学成分,鉴定了27种化合物,占挥发油总含量的99.72%,含量最高的物质为柠檬烯(33.08%),其次分别是N,N'-1,2-二苯基乙酰胺(23.04%),γ-榄香烯(14.96%),2-氯-1-(3,4-二甲基苯基)-2-甲基-1-丙酮(6.01%),N,N'-二乙酰基-1,4-苯二胺(5.73%),石竹烯(3.51%)等;并用紫外分光光度计定量地测定了芹菜籽挥发油对亚硝酸钠的清除率,实验结果显示,芹菜籽挥发油可以明显的清除亚硝酸钠,当挥发油用量为40μL时,清除率最

表1 芹菜籽挥发油化学成分分析结果
Table 1 The chemical composition of the volatile oil from celery seeds

实验号	保留时间 (min)	化合物名称	分子式	分子量	百分含量 (%)
1	5.325	α -蒎烯(α -pinene)	C ₁₀ H ₁₆	136	0.20
2	5.934	4-甲基-1-(1-甲基乙基)二环[3.1.0]己二烯 (Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-)	C ₁₀ H ₁₆	136	0.08
3	6.006	1S-6,6-二甲基-2-甲基乙基双环[3,1,1]庚 (Bicyclo[3.1.1]heptane, 6,6-dimethyl-2-methylene-, (1S)-)	C ₁₀ H ₁₆	136	2.89
4	6.170	β -月桂烯(β -Myrcene C10H16)	C ₁₀ H ₁₆	136	2.00
5	6.921	柠檬烯(Limonene)	C ₁₀ H ₁₆	136	33.08
6	7.843	3,7-二甲基-1,6-辛二烯-3-醇(1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-)	C ₁₀ H ₁₈ O	152	0.06
7	8.408	顺式-柠檬烯氧化物(Limonene oxide, cis-)	C ₁₀ H ₁₆ O	152	0.07
8	8.779	6-丁基-1,4-环庚二烯(6-Butyl-1,4-cycloheptadiene)	C ₁₁ H ₁₈	150	2.98
9	11.019	顺-3-蒎烯醇(cis-Pinen-3-ol)	C ₁₀ H ₁₆ O	152	0.34
10	12.688	1-乙基-1-甲基-2,4-二(1-甲基乙基)环己烷 (Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis(1-methylethenyl)-)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.34
11	13.271	石竹烯(Caryophyllene)	C ₁₅ H ₂₄	204	3.51
12	13.911	α -石竹烯(α -Caryophyllene)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.12
13	14.654	γ -榄香烯(γ -Elemene)	C ₁₅ H ₂₄	204	14.96
14	14.762	4aR-反式-十氢-4a-甲基-1-甲基烯-7-(1-甲基亚乙基)萘 (Naphthalene, decahydro-4a-methyl-1-methylene-7-(1-methylethylidene)-, (4aR-trans)-)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.37
15	15.381	1-(1,1-二甲基乙氧基)-2-甲基苯 Benzene, 1-(1,1-dimethylethoxy)-2-methyl-	C ₁₁ H ₁₆ O	164	0.66
16	15.506	1a,2,3,4,4a,5,6,7b-八氢-1,1,4,7-四甲基-1-氢环丙萘 (1H-Cycloprop[el]azulene, 1a,2,3,4,4a,5,6,7b-octahydro-1,1,4,7-tetramethyl-)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.23
17	15.954	1,2,3,4,4a,5,6,8a-八氢-4a,8-二甲基-2-(1-甲基乙基)萘 (Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-4a,8-dimethyl-2-(1-methylethenyl)-)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.12
18	16.831	2-氨基-4-乙酰氨基苯甲醚(2-Amino-4-acetamino anisole)	C ₉ H ₁₂ N ₂ O ₂	180	0.97
19	17.496	4-氯苯甲酸2-丙烯基酯(4-Chlorobenzoic acid, 2-propenyl ester)	C ₁₀ H ₉ ClO ₂	196	0.13
20	17.887	2-氯-1-(3,4-二甲基苯基)-2-甲基-1-丙酮 (1-Propanone, 2-chloro-1-(2,5-dimethylphenyl)-2-methyl-)	C ₁₂ H ₁₅ ClO	210	6.01
21	18.459	N,N'-二乙酰基-1,4-苯二胺(N,N'-Diacyetyl-1,4-phenylenediamine)	C ₁₀ H ₁₂ N ₂ O ₂	192	5.73
22	19.591	N,N'-1,2-二苯基乙酰胺(Acetamide, N,N'-1,2-phenylenebis)	C ₁₀ H ₁₂ N ₂ O ₂	192	23.04
23	22.115	2-溴乙基-2-金刚烷醇(2-Adamantanol, 2-(bromomethyl)-)	C ₁₁ H ₁₇ BrO	244	0.23
24	22.475	2,4-二-t-丁基-1,3-戊二烯(1,3-Pentadiene, 2,4-di-t-butyl-)	C ₁₃ H ₂₄	180	0.11
25	23.728	正十六烷酸(n-Hexadecanoic acid)	C ₁₅ H ₃₂ O ₂	256	0.17
26	32.163	9-丙基吖啶(Acridine, 9-propyl-)	C ₁₆ H ₁₅ N	221	0.45
27	32.969	2,3-二酮基-6-甲氧基苯并吡喃(2,3-Diketo-6-methoxybenzo[b]pyran)	C ₁₀ H ₈ O ₄	192	0.87

大为89.8%;芹菜资源丰富,芹菜籽挥发油含量高,通过鉴定明确了主要成分以及清除亚硝酸钠的作用,为进一步开发和利用芹菜籽的药用价值提供科学的依据。

参考文献

- [1] 王文宝,马华夏,宋春梅. 芹菜籽化学成分及药理作用的研究进展[J]. 吉林医药报,2012,33(1):49-51.
- [2] 顾冬雨,吕金良,古丽娜·沙比尔,等. 高效液相色谱法测定芹菜籽中3-正丁基苯酚的含量[J]. 时珍国医国药,2007,18(3):513-514.
- [3] 郭蕾,陈彤,陈晓岚,等. 芹菜籽挥发油化学成分的研究[J]. 河南科学,2003,21(6):728-729.
- [4] 陆占国,张怀涛,苏荣军. 芹菜籽香气成分研究[J]. 化学研究,2008,18(2):58-62.
- [5] 乔丽名,陈海生,梁爽,等. 青芹籽低极性部位化学成分GC-MS分析[J]. 解放军药学学报,2004,22(2):101-103.
- [6] 阿布力米提·伊力,刘莉,阿吉艾克拜尔·艾萨,等. 维吾尔医常用药材-芹菜籽挥发油化学成分研究[J]. 天然产物与研究,2004,16(1):36-37.
- [7] 孙广仁,刁绍起,姚大地. 山芹菜籽精油化学组成的GC-MS分析[J]. 东北农业大学学报,2009,37(7):102-103.
- [8] 刘虎威著. 气相色谱方法及应用[M]. 北京:化学工业出版社,1999:102-117.
- [9] 邱培蓉著. 有机化合物波谱分析[M]. 武汉:华中师范大学出版社,1986:154-155.

- [10] 朱春华,李进学,高俊燕,等. GC-MS分析柠檬不同品种果皮精油成分[J]. 现代食品科技, 2012, 28(9): 1224-1227.
- [11] 赵秀玲. 佛手生理活性成分的研究进展[J]. 食品工业科技, 2012, 33(21): 393-397.
- [12] 冯爱梅,赵朴,郭海飞,等. 榄香烯对恶性淋巴瘤细胞多药

- 耐药性影响及机制的研究[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2012, 19(15): 1149-1152.
- [13] Shafi P M, Rosamma M K, Jamil K, et al. Antibacterial activity of the essential oil from aristolochia India[J]. Fitoterapia, 2002, 73(5): 439-442.

(上接第80页)

若溶液采用蒸馏水稀释,则采用式(2)计算水样的耗氧量:

$$\rho(O_2) = \frac{[(10+V_1)K-10] - [(10+V_0)K-10]R}{V_3} \times c \times 8 \times 1000 \quad \text{式(2)}$$

式中: ρ —耗氧量的浓度(mg/L); R —稀释水样时,蒸馏水在100mL体积内所占的比例值(例如:25mL水样用蒸馏水稀释至100mL,则 $R = \frac{100-25}{100} = 0.75$); c —高锰酸钾标准溶液的浓度[$c(\frac{1}{5} \text{KMnO}_4) = 0.01000 \text{mol/L}$]; 8 —与1.00mL高锰酸钾标准溶液[$c(\frac{1}{5} \text{KMnO}_4) = 1.000 \text{mol/L}$]相当的以毫克(mg)表示氧的质量; V_3 —水样体积(mL)。

1.2 标准GB11892-1989中高锰酸盐指数的计算

如样品未经稀释测定,高锰酸盐指数按式(3)计算:

$$I_{Mn} = \frac{[(10+V_1) \times \frac{10}{V_2} - 10] \times c \times 8 \times 1000}{V_3} \quad \text{式(3)}$$

如样品经稀释后测定,按式(4)计算:

$$I_{Mn} = \frac{[(10+V_1) \frac{10}{V_2} - 10] - [(10+V_0) \frac{10}{V_2} - 10]f}{V_3} \times c \times 8 \times 1000 \quad \text{式(4)}$$

式中: V_0 —空白实验(7.3)时,消耗高锰酸钾溶液体积(mL); V_1 —样品滴定(7.2)时,消耗高锰酸钾溶液体积(mL); V_2 —标定(7.4)时,所消耗高锰酸钾溶液体积(mL); V_3 —测定(7.1, 7.2)时,所取样品体积(mL); c —草酸钠标准溶液(4.6), 0.0100mol/L ; f —稀释样品时,蒸馏水在100mL测定用体积内所占比例(例如:10mL样品用水稀释至100mL,则 $f = \frac{100-10}{100} = 0.90$)。

可以看出,GB/T 5750.7-2006和GB11892-1989中对浓度 c 的标注不同。

2 对两个标准中浓度 c 的标注不同的验证

2.1 验证方法一

根据标准中耗氧量检验方法原理写化学反应方程式,列出原始计算公式为: $10 \times c_2 - (10 \times c - A) = V_1 \times c$, A 为样品中还原性物质的毫摩尔数, c_2 为 $\frac{1}{2} \text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ 的浓度, c 为 $\frac{1}{5} \text{KMnO}_4$ 浓度,推导出1L样品中还原性物质相当的氧量为:

$$\rho(O_2) = \frac{[(10+V_1) \times c - 10c_2] \times 8 \times 1000}{100} \quad \text{式(5)}$$

根据国标GB/T 5750.7-2006中步骤1.1.5.6得 $10 \times c_2 = V_2 \times c$,即得:

$$K = \frac{10}{V_2} = \frac{c}{c_2}, \text{代入式(5)中得:}$$

$$\begin{aligned} \rho(O_2) &= \frac{[(10+V_1) \times c - 10c_2] \times 8 \times 1000}{100} \\ &= \frac{[(10+V_1) \times \frac{c}{c_2} - 10] \times c_2 \times 8 \times 1000}{100} \\ &= \frac{[(10+V_1) \times \frac{10}{V_2} - 10] \times c_2 \times 8 \times 1000}{100} \\ &= \frac{[(10+V_1) \times K - 10] \times c_2 \times 8 \times 1000}{100} \quad \text{式(6)} \end{aligned}$$

从式(6)中可以看出,如前所设 c_2 为草酸钠标准溶液的浓度[$c(\frac{1}{2} \text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4) = 0.01000 \text{mol/L}$].

2.2 验证方法二

根据标准中耗氧量浓度的计算式(1)及 $K = \frac{10}{V_2} = \frac{c}{c_2} \Rightarrow K \times c = \frac{c^2}{c_2}$ 与标准所述不符;但是,如果把 $c(\frac{1}{5} \text{KMnO}_4$ 浓度)换成 $c_2(\frac{1}{2} \text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ 的浓度),就能把计算式(1): $\rho(O_2) = \frac{[(10+V_1) \times K - 10] \times c \times 8 \times 1000}{100}$ 还原到最初所列的原始计算公式: $10 \times c_2 - (10 \times c - A) = V_1 \times c$ 。

通过对以上两种方法验证,结果提示,标准GB/T 5750.7-2006耗氧量浓度的计算公式中浓度 c 标注为高锰酸钾标准溶液的浓度[$c(\frac{1}{5} \text{KMnO}_4 = 0.01000 \text{mol/L}$]是错误的,应标注为草酸钠标准溶液的浓度[$\frac{1}{2} \text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4 = 0.01000 \text{mol/L}$].而标准GB11892-1989高锰酸盐指数计算公式中浓度 c 标注为草酸钠标准溶液的浓度是正确的。实验时,如果按GB/T 5750.7-2006的标注,将浓度 c 以高锰酸钾标准溶液的浓度计,由于高锰酸钾标准溶液的浓度实际值往往小于或大于 0.01000mol/L ,并未按标准校正到 0.01000mol/L ,就会使检验结果产生一定的误差。

综上,笔者认为标准GB/T 5750.7-2006的浓度 c 标注存在错误,亟需修改。

参考文献

- [1] GB/T 5750.7-2006. 生活饮用水标准检验方法有机物综合指标[S].
- [2] GB/T 5750-1985. 生活饮用水标准检验方法[S].
- [3] GB11892-1989. 水质 高锰酸盐指数的测定[S].