

LIPIDY NASION CZARNUSZKI SIEWNEJ (*Nigella sativa* L.)

Abdul Aleem Rashed, Ryszard Zadernowski, Halina Nowak-Polakowska

Katedra Przetwórstwa i Chemii Surowców Roślinnych,
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Wstęp

Wzrost zachorowań na choroby określone mianem społecznych, tj. miażdżycę, cukrzycę, nadciśnienie skłoniło naukowców do poszukiwania roślin bogatych w substancje ograniczające rozwój powyższych chorób. Przyroda jest bogata w różnorodne naturalne substancje biologicznie aktywne, najlepiej poznany jest układ przeciwutleniający, obejmujący takie związki jak: α -tokoferol, kwasy organiczne (w tym askorbinowy), aminokwasy tiolowe, polifenole [HEMEDA, KLEIN 1990]. Bogactwem substancji biologicznie aktywnych charakteryzują się rośliny dotychczas tylko w niewielkim stopniu rozpowszechnione, które na przestrzeni wieków tworzyły własny system ochronny, a jednocześnie nie były modyfikowane przez człowieka [KUŹNICKA, DZIAK 1992].

Do tych roślin zaliczana jest czarnuszka siewna (*Nigella sativa* L.), o której właściwościach leczniczych wspomina zapis w Księdze Izajasza (Iz. 28, 25-27) i tradycja arabska. W krajach mahometańskich po dzień dzisiejszy, czarnuszka siewna stosowana jest jako przyprawa kuchenna [UESTUN i in. 1990], a zarówno nasiona jak i olej stosowane są w leczeniu astmy, kaszlu i innych chorób [KESLER, AL-KHULAIIDI 1987; DUBAI 1994; ABOUL-ENEIN, ABOU-BASHA 1995]. W wielu krajach z nasion czarnuszki otrzymywany jest olej jadalny [UESTUN i in. 1990], posiadający właściwości antybakteryjne.

W pracy przedstawiono charakterystykę chemiczną oleju tłoczonego i ekstrakcyjnego, otrzymanego z nasion czarnuszki siewnej.

Materiał i metody

Materiał badawczy stanowiły nasiona czarnuszki pochodzące z plantacji usytuowanej w Ogrodzie Doświadczalnym ART w Olsztynie. Z nasion otrzymano olej dwoma metodami: tłoczony na laboratoryjnej prasie ślimakowej oraz ekstrakcyjny, wydobyty z nasion metodą ekstrakcji w ekstraktorze Soxhleta, stosując heksan jako rozpuszczalnik.

Metody analityczne

W nasionach czarnuszki oznaczono takie składniki chemiczne jak tłuszcz, popiół, białko, węglowodany, suchą masę, włókno surowe według AOAC [1984] i AOCS [1990].

Charakterystykę fizyko-chemiczną oleju tłoczonego i ekstrahowanego wykonano metodami opisanymi przez RUTKOWSKIEGO i KRYGIERA [1979].

Estry metylowe kwasów tłuszczowych przygotowywano wg metody opisaną przez ZADERNOWSKIEGO i SOSULSKIEGO [1978], natomiast udział procentowy różnych form lipidów oznaczono metodami opisanymi przez DROZDOWSKIEGO [1973], LEDÓCHOWSKĄ i DIATTA [1995] oraz LEDÓCHOWSKĄ i KURZYŃSKĄ [1995].

Rozdział oleju na frakcję lipidów polarnych i niepolarnych

Do kolby o pojemności 500 cm³ odważono 12 g oleju i rozpuszczano w 150 cm³ chloroformu, następnie dodawano 100 g uprzednio przygotowanego kwasu krzemowego i wytrząsano przez 20 min. Zawartość kolby przenoszono na lejek Schotta 65 o wymiarach: wysokość 100 mm i średnicy 150 mm. Niepolarne tłuszczoce wmywano 1500 cm³ chloroformu pod małą próżnią (stosując pompę wodną). Natomiast polarne wmywano 1000 cm³ metanolu. Eluaty zbierano do oddzielnych butelek i zagęszczano na wyparce rotacyjnej pod próżnią w temp. 50°C. Procentową zawartość poszczególnych frakcji ustalano wagowo.

Frakcjonowanie lipidów niepolarnych metodą chromatografii cienkowarstwowej

Przygotowanie płytek

Płytki szklane o wymiarach 34 cm x 20 cm powlecano warstwą 0,5 mm mieszaniny żelu krzemionkowego G 60 (firma Merck) i wody w stosunku 1:2. Płytki suszono w temp. pokojowej przez 12 godz. Następnie płytki aktywowano przez 1 godz. w temp. 105°C.

Rozdział tłuszczu

Na płytki chromatograficzne наносzono po 100 µl 10% roztworu tłuszczu i rozwijano, stosując dwustopniową techniką chromatografii cienkowarstwowej.

Stosowane systemy rozpuszczalników

Po naniesieniu tłuszczu na płytki umieszczano je w wysuconej komorze chromatograficznej, zawierającej 150 cm³ mieszaniny eteru etylowego, benzenu, alkoholu etylowego i kwasu octowego w stosunku 40:50:2:0,2.

Płytki rozwijano do momentu, aż czoło rozpuszczalnika osiągnęło wysokość 25 cm. Po wyjęciu z komory płytki suszono. Po odparowaniu rozpuszczalników płytki umieszczano w następnej komorze chromatograficznej, zawierającej mieszaniną eteru etylowego i heksanu w stosunku 6:94. Płytki rozwijano do momentu, aż czoło rozpuszczalnika osiągnie wysokość 32 cm. Następnie płytki suszono na powietrzu.

Wywoływanie i identyfikacja plam

Poszczególne plamy tłuszczu oznaczano i identyfikowano poprzez umieszczenie płytek chromatograficznych w komorze wysuconej jodem. Otrzymane plamy porównywano z wzorcami poszczególnych acylogliceroli.

Ilościowe oznaczanie obojętnych klas lipidów

Poszczególne frakcje tłuszczu zeszkrobivano wraz z żelazem do 50 cm³ kolbek stożkowych, dodając 40 cm³ chloroformu. Tak przygotowane próby pozostawiano na kilka godzin w ciemnym miejscu, co pewien czas wytrząsano zawartość kolbek. Następnie zawartość poszczególnych kolb sączono przez lejek Schotta, stosując pompę wodną, dodatkowo popłukując kolby 20 cm³ chloroformu. Zebrane roztwory każdej frakcji zagęszczano do objętości 5 cm³ na wyparce rotacyjnej i przenoszono do kolby o pojemności 10 cm³, odparowując rozpuszczalnik do sucha. Procentowy udział poszczególnych frakcji oznaczano wagowo.

Estry metylowe kwasów tłuszczowych

Estry metylowe kwasów tłuszczowych przygotowywano według metody opisaną przez ZADERNOWSKIEGO i SOSULSKIEGO [1978]. Do próbówki farmaceutycznej przenoszono 2–3 krople oleju, zalewano 2 cm³ mieszaniny chloroformu-metanolu-kwasu siarkowego w stosunkach objętościowych (100:100:1) i zamykano zatapiając nad palnikiem gazowym. Proces metylacji prowadzono ogrzewając przez okres 2 godz. w temp. 70°C.

Skład kwasów tłuszczowych oznaczono techniką chromatografii gazowej na chromatografie Unicam 4600, wyposażonym w detektor płomieniowo-jonizacyjny (FID) i komputerowy integrator PU 4815. Estry metylowe nanoszono na kolumnę kapilarną (WCOT) o parametrach 30 m x 0,32 mm, grubości filmu 0,25 mm (Supelcowax 10); gazem nośnym był hel. Stosowano następujące parametry chromatografii: temp. detektora – 250°C, kolumny – 180°C, odparowywacza – 220°C

Oznaczanie tokoferoli

Oznaczanie tokoferoli wykonano zgodnie z zaleceniami zawartymi w katalogu Supelco Chromatography Products oraz publikacjach SPEEK i in. [1985] oraz WARNER, MOUNTS [1990]. W celu ilościowego oznaczenia tokoferoli odważano 0,8 g oleju do kolby miarowej o pojemności 10 cm³ i uzupełniano do kreski heksanem. Heksanowy roztwór oleju w ilości 20 µL nanoszono na kolumnę chromatograficzną o następujących parametrach:

kolumna chromatograficzna (firmy Merck) o średnicy wewnętrznej 4 mm i o długości 0,25 m, wypełniona Li Chrospher Si 100 o średnicy ziaren 10 µm.

Rozdział chromatograficzny badanych próbek przeprowadzono metodą HPLC na aparacie firmy Hewlett-Packard (Dar Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej), stosując następujące warunki rozdziału:

faza ruchoma – 0,35%, alkohol n- amylowy I rzędowy w heksanie, przepływ fazy ruchomej 1,8 cm³ na minutę, detektor spektrofotometryczny UV firmy Hewlett-Packard z kuwetą przepływową o objętości 7 µL, pomiar przy długości fali 295 nm. Rozdział chromatograficzny przeprowadzono w warunkach izokratycznych. Identyfikację przeprowadzono przez porównanie czasów retencji pików badanych próbek z wzorcami. Wzorcami ilościowymi były tokoferole (czyste do analiz), pochodzące z firmy Sigma i Merck.

Związki fenolowe oznaczano metodą kolorymetryczną, stosując do wywołania reakcji barwnej odczynnik Folina-Ciocalteaus'a (rozcieńczony wodą w stosunku 1:2) [AOAC 1984].

Omówienie wyników

W przypadku czarnuszki siewnej surowcem zielarskim są nasiona. Podstawowym składnikiem nasion są lipidy rozproszone w postaci drobnych kuleczek w matrycy białkowo-węglowodanowej.

W badanych nasionach ilość oleju wynosiła 38,2%, białka 20,8%, a węglowodanów 31,9%. Pozostały procent stanowiły: włókno surowe 7,9%, popiół 4,4% oraz woda 4,6% (tab. 1).

Tabela 1; Table 1

Skład chemiczny nasion czarnuszki siewnej
Chemical composition of black cumin seeds

Skład chemiczny; Chemical composition	Zawartość Contents (%)
Woda; Water	4,64
Białko; Protein	20,85
Tłuszcz; Fat	38,20
Popiół; Ash	4,37
Włókno surowe; Crude fibre	7,94
Węglowodany; Carbohydrates	31,94

O właściwościach leczniczych i bakteriostatycznych czarnuszki decyduje przede wszystkim obecność w nasionach olejków eterycznych, saponin, żywic, gum, substancji gorzkich oraz glikozydu melantyny i alkaloidu demasceny.

Ze względu na stosunkowo małą efektywność farmaceutyczną w porównaniu z innymi ziołami o podobnym działaniu, obecnie nasiona czarnuszki rzadko są używane w lecznictwie. Zainteresowanie dietetyków budzi olej z czarnuszki siewnej, który w porównaniu z nasionami innych roślin oleistych (rzepak, słonecznik) zawiera triacyloglicerole o charakterystycznym składzie kwasów tłuszczowych.

Badania lipidów nasion dowiodły, że są one mieszaniną tłuszczu neutralnego (96,9%) oraz lipidów spolaryzowanych (3,1%).

Tłuszcz neutralny jest mieszaniną: triacylogliceroli, di- i monogliceroli, wolnych kwasów tłuszczowych, estrów steroli, węglowodanów oraz steroli. Udział procentowy poszczególnych frakcji podano w tab. 2.

Otrzymane w wyniku tłoczenia i ekstrakcji oleje posiadały zbliżone cechy fizyczne takie jak: współczynnik załamania światła, gęstość, natomiast różniły się barwą, ze względu na zwiększone o 120 jednostek stężenie chlorofilu. W porównaniu z olejem ekstrahowanym, olej tłoczony posiada mniejszą ilość substancji niezmydlających. Substancje niezmydlające tworzą głównie: sterole, estry steroli, barwniki, związki fenolowe, tokoferole (tab. 3).

Na uwagę zasługuje znaczny udział w badanych olejach tokoferoli, szczególnie jego forma γ -tokoferol, występująca w oleju tłoczonym w ilości 22,6 mg%. W oleju ekstrahowanym dominowała forma δ -tokoferolu (16,1 mg%). Zawartość poszczególnych form tokoferoli w oleju tłoczonym i ekstrahowanym przedstawiono w tabeli 4.

Tabela 2; Table 2

Skład procentowy lipidów nasion czarnuszki siewnej
Percentage composition of black cumin seeds lipids

Frakcje lipidów; Lipid fractions	Zawartość (% s.m.) Content (% DM)
Zawartość tłuszczu; Fat content	40,2
Lipidy polarne; Polar lipids	3,1
Lipidy neutralne, w tym; Nonpolar lipids:	96,9
Węglowodory; Hydrocarbons	2,1
Estry sterole; Sterol esters	1,7
Triacyloglicerole; Triacylglycerols	81,4
Diacyloglicerole; Diacylglycerols	3,5
Monoglicerole; Monoacylglycerols	5,0
Wolne kwasy tłuszczowe; Free fatty acids	6,3

Tabela 3; Table 3

Charakterystyka fizyko-chemiczna oleju czarnuszki siewnej
Physical and chemical characteristics of black cumin seeds oil

Cecha Feature	Rodzaj oleju Kind of oil	
	toczony pressed	ekstrahowany extracted
Współczynnik refrakcji; Light refraction coefficient	1,470	1,469
Liczba jodowa; Iodine number	127	111
Gęstość; Density	0,922	0,903
Barwa ($A_{460} + A_{660} \times 1000$); Colour ($A_{460} + A_{660} \times 1000$)	412	532
Substancje niezmydlające; Non saponifiable lipids	0,81	0,94
Karotenoidy; Carotenoids ($\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$)	0,53	0,71
β -karoten; β -carotene ($\text{mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$)	śl.	śl.
Związki fenolowe; Phenolic compounds (%)	0,91	0,98

śl. – ślad; trace

Tabela 4; Table 4

Ilość tokoferoli w oleju z nasion czarnuszki siewnej
Amount of tocopherols in oil from black cumin seeds

Tokoferol; Tocopherol	Tłoczony Pressed	Ekstrahowany Extracted
α -tokoferol; α -tocopherol	0,989	0,620
γ -tokoferol; γ -tocopherol	22,610	10,300
δ -tokoferol; δ -tocopherol	2,799	16,060
Suma; Total	26,398	26,880

Zainteresowanie olejem czarnuszki siewnej jako olejem dietetycznym spowodowane jest przede wszystkim unikalnym składem kwasów tłuszczowych. W badanych olejach w ponad 56% dominował kwas linolowy. W mniejszych o połowę ilościach, w stosunku do kwasu linolowego, występował kwas oleinowy, a następnie stearynowy (około 12,5%). Wyliczono, że przybliżony stosunek kwasów wielonienasyconych do jednonasyconych i nasyconych wynosi 3,5:2:1. Skład kwasów tłuszczowych zamieszczono w tabeli 5.

Tabela 5; Table 5

Skład kwasów tłuszczowych oleju czarnuszki siewnej
Composition of fatty acids in oil from black cumin seeds

Kwasy tłuszczowe Fatty acids	Rodzaj oleju Kind of oil	
	tłoczony pressed	ekstrahowany extracted
C14	0,37	0,25
C16:0	12,46	12,77
C16:1	0,35	0,44
C17	–	0,09
C18:0	3,18	3,11
C18:1	23,40	24,21
C18:2	57,20	56,34
C18:3	0,17	0,06
C18:3γ	0,72	-
C20:0	0,17	0,22
C20:1	0,35	0,33
C20:2	2,35	2,18
Nienasycone; Saturated	16,18	16,44
Jednonienasycone; Monoenic	24,10	24,98
Wielonienasycone; Polyenic	59,72	58,58

Wnioski

1. Wysoka zawartość oleju w nasionach czarnuszki siewnej upoważnia do zaliczenia tej rośliny do grupy roślin oleistych alternatywnych.
2. Skład ilościowy i jakościowy oleju tłoczonego, a przede wszystkim poziom ilościowy tokoferoli i karotenoidów pozwala zaliczyć olej z nasion czarnuszki siewnej do olejów dietetycznych.

Literatura

ABOUL-ENEIN H.Y., ABOU-BASHA L.I. 1995. Simple HPLC method for the determination of thymoquinone in black seed oil (*Nigella Sativa* Linn.). J. Liquid Chrom. 18(5): 895–902.

- AOAC. 1984. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. 14th edited. Association of Official Analytical Chemists. Arlington.
- AOCS. 1990. *Official and Tentative Methods*. 4th edited. American Oil Chemists' Society. Champaign II.
- DROZDOWSKI B. 1973. *Wpływ budowy glicerydów i występujących w nich kwasów tłuszczowych na mechanizm hydrolizy enzymatycznej*. Zesz. Nauk. Politechniki Gdańskiej Nr 217, Chemia XXV: 3–86.
- DUBAI A.S. 1994. *Medicinal Plants in Yemen & its Importance in Pharmaceutical Industry*. First Conference of University teachers in sana,a & Taiz, Sana Yemen: 20.
- HEMEDA H.M., KLEIN B.P. 1990. *Effects of naturally occurring antioxidants on peroxidase activity of vegetable extracts*. J. Food Sc. 55(1): 184–185, 192.
- KESSLER J.J., AL-KHULAIIDI A.A. 1987. *Common Plant Species of the Dhamar Montane Plains, notes on colloquial names, distribution and local use*. Dhamar, Yemen. RLIP, No. 12: 120–123.
- KUŹNICKA B., DZIAK M. 1992. *Zioła i ich stosowanie. Historia i współczesność*. PZWL, Warszawa: 10–16.
- LEDÓCHOWSKA E., DATTA I. 1995. *Enzymatyczne i chemiczne przeestryfikowanie mieszaniny oleju rzepakowego i stearyny palmowej*. Tłuszcze Jadalne XXX(4): 169–183.
- LEDÓCHOWSKA E., KURZYŃSKA A. 1995. *Wpływ ilości wody obecnej w enzymie na proces enzymatycznego przeestryfikowania tłuszczów*. Tłuszcze Jadalne XXX(4): 159–168.
- RUTKOWSKI A., KRYGIER K. 1979. *Technologia i analiza tłuszczów jadalnych*. SGGW Warszawa: 130–136..
- SPEEK A.J., SCHRIJVER J., SCHREURS W.H.P. 1985. *Vitamin E composition of some seed oils as determined by HPLC with fluorometric detection*. J. Food Sci. 50: 121–124.
- UESTUN G., KENT L., CEKIN N., CIVELEKOGLU H. 1990. *Investigation of the technological properties of Nigella Sativa (black cumin) seed oil*. J. Am. Oil Chem. Soc. 67(12): 958–960.
- WARNER K., MOUNTS T.L. 1990. *Analysis of tocopherols and phytosterols in vegetable oils by HPLC with evaporative light scattering detection*. J. Am. Oil Chem. Soc. 67(1): 827–831.
- ZADERNOWSKI R., SOSULSKI F. 1978. *Composition of total lipids in rapeseed*. J. Am. Oil Chem. Soc. 55(12): 870–872.

Słowa kluczowe: czarnuszka siewna (*Nigella sativa* L.), lipidy, triacyloglicerole, tokoferole

Streszczenie

W pracy przeprowadzono fizyko-chemiczną charakterystykę oleju czarnuszki siewnej.

Materiał badawczy stanowiły nasiona pochodzące z plantacji usytuowanej w Ogrodzie Doświadczalnym ART w Olsztynie. W nasionach oznaczono podstawa-

we składniki chemiczne: tłuszcz, białko, błonnik, popiół, węglowodany. W oleju określono skład procentowy frakcji acylogliceroli, skład kwasów tłuszczowych oraz substancje biologicznie aktywne rozpuszczalne w tłuszczach. Ponad 40% zawartości oleju w nasionach czarnuszki siewnej upoważnia do zaliczania tej rośliny do grupy roślin oleistych alternatywnych. Natomiast kompozycja ilościowa i jakościowa oleju tłoczonego, a przede wszystkim skład kwasów tłuszczowych i poziom ilościowy tokoferoli i karotenoidów pozwala zaliczyć olej z nasion czarnuszki siewnej do olejów dietetycznych.

LIPIDS IN BLACK CUMIN (*Nigella sativa* L.) SEEDS

Abdul Aleem Rashed, Ryszard Zadernowski, Halina Nowak-Polakowska
Department of Food Plant Chemistry and Processing,
Warmia and Masuria University, Olsztyn

Key words: black cumin seeds (*Nigella sativa* L.), lipids, triacylglycerols, tocopherols

Summary

Physical and chemical features of black cumin seeds oil were analyzed in this study. Seeds from plantation located in experimental garden of Olsztyn University were used for investigation. Basic chemical components: fat, protein, fiber, ash and carbohydrates were determined in seeds. Percentage of acyloglycerols fractions, fatty acids composition and biologically active substances soluble in fat were determined in seed oil. Over 40% oil content in black cumin seeds enable including these plants into groups of alternative oiliferous plants. However, the quantitative and qualitative composition of pressed-oil and, first of all, the fatty acid composition and quantitative level of tocopherols and carotenoids, permit to account the oil of black cumin seeds to dietetic ones.

Mgr Abdul Aleem **Rashed**

Katedra Przetwórstwa i Chemii Surowców Roślinnych
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski
Plac Cieszyński 1
10-957 OLSZTYN