

一种同时提取烟草中茄尼醇和烟碱并测定其含量的简便方法

陈燕梅¹, 刘财清¹, 陈建民²

(1.三明华健生物工程有限公司, 福建 三明 365001; 2.复旦大学环境科学与工程系, 上海 200433)

摘要: 介绍了一种同时提取烟草中茄尼醇和烟碱作为供试溶液, 并利用反相高效液相色谱法测定两者含量的简便方法。实验证明, 该方法操作简便, 精密度高, 重复性好, 具有一定的实用价值。

关键词: 烟草; 茄尼醇; 烟碱; 含量; 测定

中图分类号: TS41⁺1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1007-5119 (2009) 02-0071-03

A Simple Method to Extract and Determinate Solanesol and Nicotine in Tobacco

CHEN Yanmei¹; LIU Caiqing¹; CHEN Jianmin²

(1.Sanming Huajian Bio-engineering Corp. Ltd, Sanming, Fujian 365001, China; 2. Department of Environment Science & Engineering, Fudan University, Shanghai 200433, China)

Abstract: A simple method to extract and determinate solanesol and nicotine in tobacco was introduced in this paper. The content of solanesol and nicotine could be determined by RP-HPLC simultaneously. The results showed the method was accurate, stable, repeatable, and practical.

Keyword: tobacco; solanesol; nicotine; content; determinate

烟草中含有一定量的茄尼醇和烟碱, 前者是合成辅酶 Q₁₀ 的重要中间体。随着辅酶 Q₁₀ 的广泛应用, 茄尼醇的提取及其含量测定亦受到越来越广泛地关注^[1]。烟碱又称尼古丁, 是烟草中的主要生物碱, 在医药、农业、烟草等行业的应用十分广泛。

目前, 茄尼醇的检测方法有气相色谱法、电化学法和色谱法^[2], 其中, 高效液相色谱法应用较广。烟碱的检测方法包括高效液相色谱法、紫外可见分光光度法、硅钨酸重量法和气相色谱法^[3]。因其他方法的前处理较为费时、分析时间过长以及区分度差等问题, 一般采用高效液相色谱法。目前, 能一次性同步提取烟草中茄尼醇和烟碱的方法并不多。贵州师范大学郑奎玲等采用有机溶剂提取茄尼醇和部分游离态烟碱, 再用碱水浸泡烟渣, 用有机溶剂萃取获得化合态烟碱, 实现了茄尼醇和部分烟碱

的同步提取^[4]。该方法烟碱提取分为两步进行, 耗时较长。本文所介绍的方法能实现一次性地同步提取烟草中的茄尼醇和烟碱, 作为供试品溶液, 再采用不同的色谱条件分别进行检测。该方法操作简单, 灵敏度高, 对茄尼醇、烟碱生产厂家快速判别烟叶好坏以及茄尼醇和烟碱同步提取的工业化应用具有一定的指导意义。

1 材料与方法

1.1 主要仪器、试剂与原料

Waters 高效液相色谱仪、2487 检测器、717 自动进样器、大连依利特高效液相色谱仪、UV200 检测器, 大连依利特 C18 色谱柱, 超声波清洗仪、HPLC 甲醇和乙醇, 分析纯甲醇和 NaOH。烟草样品由三明华健生物工程有限公司提供, 茄尼醇标样

基金项目: 福建省科技计划重点项目 (2006Y0034), 福建省中小企业创新基金 (2007C0032)

作者简介: 陈燕梅 (1980-), 硕士, 主要从事生物工程技术开发与研究。E-mail: cym2366@sina.com

收稿日期: 2007-12-12

修回日期: 2008-05-12

(sigma, 98%) 和烟碱标样 (sigma, 99.2%) 均由 Sigma 公司提供。

1.2 色谱条件及测定方法

测定茄尼醇含量的高效液相色谱条件: 按参考文献[5], 采用 Waters 液相色谱仪, 流动相: 甲醇-乙醇 (80:20), 检测波长: 215 nm, 流速: 1 mL/min, 色谱柱填料: C18。

测定烟碱含量的高效液相色谱条件: 按参考文献[3], 采用大连依利特色谱仪, 流动相: 甲醇-磷酸盐缓冲液 (60:40), 检测波长: 259 nm, 流速: 1 mL/min, 色谱柱填料: C18。

磷酸盐缓冲液配置: 2.42 g 磷酸氢二钠, 3.5 mL 磷酸和 6.5 mL 三乙胺, 加水定容至 1 000 mL。

1.3 供试样品的制备

将烟草样品粉碎, 过 100 目筛, 在 60°C 条件下烘干 30 min, 准确称取 1.00 g 样品, 加入 20 mL 甲醇, 并加入 0.20 g 片碱, 称取总重量, 浸泡 1 h 后, 超声 20 min 后称重, 用甲醇补足失重量, 再移取滤液 5 mL 至 10 mL 容量瓶, 用甲醇定容, 微孔滤膜过滤后待测。

1.4 不同加碱量对测定结果的影响

样品处理过程同 1.3, 但称取 1.00 g 样品 5 份, 并分别加入 0.05、0.07、0.10、0.20、0.30 g 片碱。

1.5 超声时间的影响

样品处理过程同 1.3, 但称取样品 4 份, 浸泡 1h 后, 分别超声 10、20、30、40 min 后再称重。

1.6 精密度试验

按 1.2 色谱条件, 取浓度为 0.88 mg/mL 茄尼醇标准液和 1.73 mg/mL 烟碱标准液, 重复测定 5 次, 每次进样量为 10 uL, 记录每次峰面积, 计算茄尼醇峰面积的 RSD 值。

1.7 重现性试验

精密称取同一份烟草样品 5 份, 按 1.3 方法将其制备成供试样品溶液, 按 1.2 色谱条件, 分别测定, 记录峰面积值, 计算茄尼醇和烟碱峰面积的 RSD 值。

1.8 方法学比较试验

茄尼醇和烟碱的供试品溶液有多种制备方法, 选择其中的两种制备方法, 采用 1.2 节所描述的色谱检测条件, 与本文中所提出的方法进行比较。

1.8.1 茄尼醇供试品制备 方法 A: 按文献[6], 称取烟草样品 2 g, 置于 100 mL 圆底烧瓶中, 加入 80%乙醇 20 mL, KOH 0.2 g, 水浴加热回流 2 h, 冷却后过滤, 用石油醚萃取 3 次, 滤渣再用石油醚超声提取, 合并石油醚溶液, 减压浓缩, 用甲醇定容至 25 mL。方法 B: 按文献[7], 称取烟草样品 2 g 于 100 mL 烧瓶中, 按料液质量比 1:5.3 加入石油醚, 在 70°C 水浴下提取回流 2 h, 提取 5 次, 合并石油醚, 减压浓缩至 1/3, 加入等体积的 30 g/L 氢氧化钠甲醇溶液, 70°C 水浴皂化 3 h, 冷却分层后, 液液分离。为消除石油醚溶剂峰, 不采用加入石油醚再萃取的方法, 直接准确量取 2 mL 皂化后甲醇溶液, 用甲醇定容至 25 mL, 作为供试品溶液。

1.8.2 烟碱含量测定 方法 C: 采用硅钨酸沉淀法^[8]。称取 2 g 烟草样品, 加入水和片碱, 进行水蒸气蒸馏, 使全部生物碱挥发出来, 加入硅钨酸, 得到硅钨酸-烟碱 ($\text{SiO}_2 \cdot 12\text{WO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O} \cdot 2(\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2) \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 沉淀, 将沉淀灼烧, 根据沉淀的比例关系计算烟碱含量。方法 D: 按文献[6], 称取 1 g 烟草样品, 加入 50 mL 甲醇, 常温下超声 30 min 后定容至 50 mL, 静置后过微孔滤膜

所有方法都做了 3 次重复。

2 结果与讨论

2.1 加碱量对测定结果的影响

不同加碱量试验结果见图 1、2, 可以看出, 片碱加入量的多少对烟碱含量的影响较小, 但是对茄尼醇含量有较大地影响, 在加碱量大于 0.20 g 即烟草样品的 1/5 倍量时, 测定结果基本保持不变。

2.2 超声时间对测定结果的影响

试验结果表明, 超声时间超过 20 min 时, 茄尼醇和烟碱含量基本不变, 表明烟草中的茄尼醇和烟碱已被提取完全, 增加超声时间已经无多大用处。

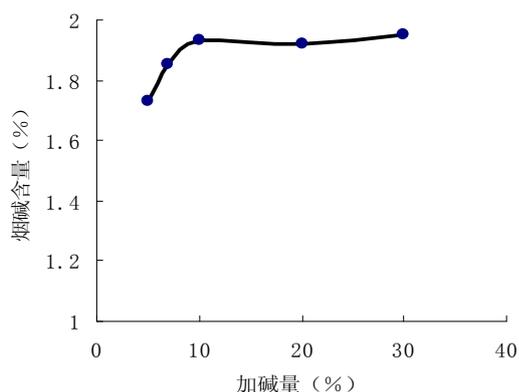


图1 加碱量对烟碱提取的影响

Fig. 1 Effects of NaOH addition level on nicotine extraction

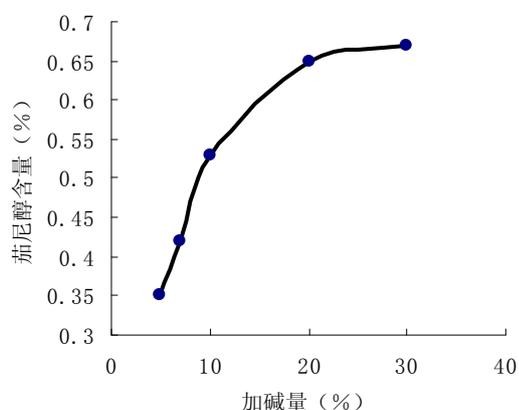


图2 加碱量对茄尼醇提取的影响

Fig. 2 Effects of NaOH addition on solanesol extraction

2.3 精密度试验

结果证明, 茄尼醇峰面积的 RSD 值为 0.23%, 烟碱峰面积的 RSD 值为 0.36%, 表明仪器的精密度良好。

2.4 重现性试验

结果证明, 茄尼醇峰面积的 RSD 值为 1.25%, 烟碱峰面积的 RSD 值为 1.32%, 表明该方法的重现性良好。

2.5 与其它方法的比较

各种方法所得结果列于表 3。方法 A 与本文方法有类似之处, 但采用乙醇以及石油醚, 极性均较甲醇小, 不利于烟碱的提取, 故烟碱检测含量较低。其它方法均只适合单种含量测定。方法 C 采用硅钨酸沉淀法, 测定的是烟草中烟碱类植物碱含量^[9], 为排除溶液中氨盐等无机盐对形成沉淀的影响, 先

采用水蒸气蒸馏法。但由于无法完全将烟碱类物质蒸出, 难以控制反应是否已完全, 故测量值偏低且误差较大。

表1 各种方法比较 %

Table 1 The comparison between various methods

方法	茄尼醇		烟碱	
	含量	RSD	含量	RSD
方法 A	0.62	1.26	1.68	2.03
方法 B	0.58	1.89	—	—
方法 C	—	—	1.63	2.81
方法 D	—	—	1.73	1.93
本文方法	0.63	1.39	1.86	1.57

3 结论

通过对加碱量和超声时间的研究, 得出最佳检测方法为: 加碱量控制在烟草样品质量的 1/5 倍为宜, 超声时间为 20 min。本文所报道的方法精密度高, 稳定性好, 与其它方法比较, 具有快速, 准确等优点, 具有较好的推广应用价值。

参考文献

- [1] 陈爱国, 申国明, 梁晓芳, 等. 茄尼醇的研究进展与展望[J]. 中国烟草科学, 2007, 28 (6): 44-48.
- [2] 蔡震峰, 任凤莲. 废次烟末中茄尼醇的检测研究进展[J]. 科技信息, 2007 (17): 58-60.
- [3] 储志兵, 周新光, 水恒福, 等. 反相高效液相色谱法测定烟草中烟碱含量[J]. 农业环境科学学报, 2006, 25 (增刊): 751-754.
- [4] 郑奎玲, 张万辉, 聂运寿. 从废次烟叶中同时提取茄尼醇和烟碱的实验[J]. 贵州师范大学学报, 2004, 22(2): 81-83
- [5] 周新光, 陆华, 薛华欣, 等. 烟碱和茄尼醇的同时提取[J]. 中国医药工业杂志, 2006, 37 (7): 15-16
- [6] 柳先平, 陈军辉, 李磊, 等. RP-HPLC-UV 法测定不同产地烟叶中茄尼醇含量[J]. 天然产物研究与开发, 2006, 18 (9): 156-159
- [7] 高敏, 杨磊, 祖元刚. 高效液相色谱法测定茄科植物废弃物中茄尼醇[J]. 理化检验-化学分册, 2007 (43) 454-456.
- [8] 金闻博, 戴亚. 烟草化学[M]. 北京: 清华大学出版社, 1983: 252-253.
- [9] Ogg C L, Willits C O, Ricciuti C. Effect of ammonium on determination of Nicotine. Industrial and Engineering Chemistry[J]. Analytical Edition, 1993, 11:505- 508.

(责任编辑 张久权)