

高效薄层色谱扫描法测定烟草中 β -胡萝卜素*

时 亮, 朱晓兰, 刘百战, 高 芸

(合肥经济技术学院, 安徽 合肥 230052)

摘要: 建立了测定烟草中 β -胡萝卜素的高效薄层色谱扫描方法, 以 $V(\text{苯}) : V(\text{丙酮}) = 4 : 1$ 为展开剂, 检测波长 450 nm, 线性范围 50 ng~ 0.5 μg , 最低检测限 20 ng, 方法简便、灵敏、快速、重现性好。

关键词: 高效薄层色谱法; β -胡萝卜素; 烟草

中图分类号: O658

文献标识码: B

文章编号: 1000-8713(1999)06-0606-02

1 前言

胡萝卜素类物质是烟草中许多致香物质的前体。据报道, 它们的降解产物与烟草的香味有着密切的联系^[1-3]。在烟草的各类胡萝卜素中, β -胡萝卜素的作用十分重要。因此研究和测定烟草及烟制品中 β -胡萝卜素的质量比对于研究烟草配方有着重要的意义。本文用高效薄层色谱法测定了烟草中 β -胡萝卜素的质量比, 与其它方法相比, 它具有快速、灵敏、简便等特点, 测定结果令人满意。

2 实验部分

2.1 实验仪器与试剂

岛津 CS-9000 双波长薄层扫描仪; ZFQ85A 旋转蒸发仪; 规格为 200 mm \times 100 mm 的 HSGF254 的高效薄层硅胶板(烟台化工研究所制), 于 105 $^{\circ}\text{C}$ 下活化 1 h, 置于干燥器中备用。

苯、丙酮皆为分析纯, β -胡萝卜素纯度大于 99.9%。以丙酮为溶剂, 配成 50 mg/L 的 β -胡萝卜素标准溶液, 置于冷暗处备用。

2.2 实验方法

用微量定量点样管将 β -胡萝卜素标准溶液和样品溶液点于上述经活化的 HSGF₂₅₄ 高效薄层硅胶板上。以 $V(\text{苯}) : V(\text{丙酮}) = 4 : 1$ 为展开剂上行展开至 15 cm。取出硅胶板, 将其置于薄层扫描仪上, 以双波长反射法锯齿型扫描。测定波长 450 nm, 参比波长 520 nm, 散射系数 $SX = 3$ 。根据峰面积积分值, 以外标法定量。

3 结果与讨论

3.1 分离条件及测定波长的选择

曾用乙酸乙酯、甲醇、乙醇、丙酮、苯、石油醚等单一或混合展开剂, 对标样及试样进行薄层分离试验, 结果表明以 $V(\text{苯}) : V(\text{丙酮}) = 4 : 1$ 混合展开剂分离效果为最佳。对展开后的 β -胡萝卜素斑点进行原位可见光谱扫描可知, 在 450 nm 处 β -胡萝卜素有最大吸收。因此, 选择 450 nm 为检测波长, 选择吸收值较低的 520 nm 为参比波长。

3.2 线性关系的考察

精确量取已配制好的标准溶液 1, 2, 3, 4, 5 μL 点样于同一硅胶板上, 按上述实验条件展开、凉干、扫描, 以峰面积积分值 Y 为纵坐标, 标准品质量 X (μg) 为横坐标, 计算其回归方程为 $Y = 466.102X - 16.150$, $r = 0.9989$ 。 β -胡萝卜素在 50 ng~ 0.5 μg 范围内呈线性关系, 最低检测限 20 ng。

3.3 烟草样品测定

分别准确称取烟草烘烤过程不同阶段的烟叶 2 g, 与 $V(30 \text{ mL 丙酮}) : V(\text{水}) = 9 : 1$ 一起放入旋转研磨器中磨成碎末。离心后, 取上层清液于分液漏斗, 加入适量苯, 再缓慢加入水。反复萃取, 使色素转移到苯层中。经无水硫酸钠脱水后, 用旋转蒸发仪在 40 $^{\circ}\text{C}$ 下减压浓缩至近干, 残留物用苯溶解并定容至 5 mL。再按实验方法点样、展开、扫描。测定结果见表 1。

3.4 精密度

以相同体积的 β -胡萝卜素标准溶液 5 份, 在同一薄层板上点样、展开、扫描, 进行同板精密度测定, $RSD = 2.02\%$ 。同法进行异板精密度测定, $RSD = 3.25\%$ 。

3.5 稳定性

精确量取不同体积的 β -胡萝卜素标准溶液在同一薄层板上点样、展开, 每隔 20 min 扫描测定一

* 收稿日期: 1998-05-28, 修回日期: 1998-08-11

次。结果表明, 90 min 内斑点面积基本稳定, $RSD = 2.56\%$ 。

表1 烟草试样测定结果($n=3$)Table 1 Analytical results of tobacco samples ($n=3$)

	烘烤前 Before flue- curing	变黄后 After yellowing	定色后 After color fixing	干叶后 After leaf drying	干筋后 After stem drying
β -胡萝卜素质量比 β -Carotene mass ratio (g/kg)	0.061	0.041	0.049	0.055	0.058
$RSD(\%)$	1.16	1.82	1.77	1.24	1.621

3.6 回收率

将样品和加入已知量 β -胡萝卜素的样品分别点样、展开及扫描测定, 用差减法求出 β -胡萝卜素的回收率, 结果见表2。

表2 回收率测定结果($n=5$)Table 2 Recovery of β -carotene added to sample ($n=5$)

加入质量比 Added (g/kg)	测得质量比 Found mass ratio (g/kg)	回收率 Recovery (%)	平均回收率 Average recovery (%)	RSD (%)
0.052	0.050	96.2		
0.145	0.146	100.7	98.6	2.3
0.210	0.208	99.0		

参 考 文 献

- 1 Chortyk O T. Tobacco Science, 1967, 11: 137-139
- 2 Severson R F, Arrendale R F, Chaplin J F et al. J Agric Food Chem, 1979, 27(4): 896-898
- 3 周冀衡. 烟草生理与生物化学. 合肥: 中国科学技术大学出版社, 1996. 401~402

Determination of β -Carotene in Tobacco by HPTLC

SHI Liang, ZHU Xiao-lan, LIU Baizhan, GAO Yun

(Hefei Institute of Economics and Technology, Hefei 230052, China)

Abstract: This paper reports the high performance thin-layer chromatography (HPTLC) determination of β -carotene in tobacco. The developer used was $V(\text{benzene}) \cdot V(\text{acetone}) = 4:1$. The detection wavelength was 450 nm. The linear range and the detectable limit of the method were 50 ng-0.5 μ g and 20 ng per spot of β -carotene respectively. The method has been proved to be simple, sensitive, accurate and reproducible.

Key words: high performance liquid chromatography; β -carotene; tobacco