

连续流动法测定烟草中的挥发酚

于瑞国^{1,2}, 蔡明招¹, 李荣², 王蕾²

¹华南理工大学化学与化工学院, 广东广州 510641;

²广州秘理普天然植物技术开发有限公司, 广东广州 510660

摘要:建立一种测定烟草及烟草制品挥发酚的连续流动方法,烟草浸提液在 155℃,16%(v/v)磷酸条件下蒸馏,挥发酚与 4-氨基安替吡啉和铁氰化钾反应,生成一种红色物质,其最大吸收波长为 505nm。结果表明:在标准溶液浓度为 0~6.0mg/L 的范围,遵循比尔定律,有良好的线性关系,相关系数 r 为 0.9996,方法的检出限($s/n=3$)为 3.9 μ g/L,平均回收率为 98.5%~101.1%,相对标准偏差(RSD)为 1.9%($n=10$)。

关键词:烟草及其制品;挥发酚;连续流动分析

中图分类号:SO657.32;SO625.3;TS47 **文献标识码:**A

Determining Volatile Phenols in Tobacco & Cigarette by Continuously Flow Analysis

Yu Ruiguo^{1,2}, Cai Mingzhao¹, Li Rong², Wang Lei²

¹SCUT, GuangZhou 510641; ²Millip Technology of Aromatic Plant Limited, GuangZhou 510660

Abstract: Established a new method to determine the volatile phenols in tobacco & cigarette extracts by continuously flow analysis. The powder of tobacco & cigarette is extracted by water, and distilled under the 155℃ condition, so the volatile phenols is obtained, distillation medium is 16%(v/v)H₃PO₄. The volatile phenols reacts with 4-antipyrine and potassium ferricyanide, the pink reactant is measured under 505nm using Continuously Flow Analysis method. Beer's law is obeyed over the concentration range of 0~6 mg/L of phenol, the linear relationship is 0.9996, the detection limit ($s/n=3$) is 3.9 μ g/L, the average recovery is 98.5%~101.1%, and the relative standard deviation(RSD) is 1.9%($n=10$).

Key words: tobacco & cigarette, volatile phenols, continuously flow analysis

卷烟烟气中酚类物质有 282 种,其中部分酚(如苯酚)对皮肤及呼吸道粘膜有强烈的刺激作用,某些酚类物质(如甲酚)还可能影响卷烟的口感,引起涩味、辣味和余味不干净等^[1]。酚类化合物又按其能否与水蒸气一起蒸出分为挥发性酚及不挥发性酚两类,一元酚除对硝基酚外,如苯酚及各种甲酚、二甲酚、氯酚及硝基酚等沸点均在 230℃ 以下,多属于挥发性酚;而沸点在 230℃ 以上的为不挥发酚,二元酚及三元酚多属于不挥发酚。挥发酚即指蒸馏时能随水蒸气一并挥发的这一类酚类化合物,对烟草品质的影响大多为负面影响^[2]。

挥发酚在烟草中具有极其重要的作用,因此,对于挥发酚的测定方法有很多研究。目前,挥发酚的测定方法主要有:蒸馏后 4-氨基安替吡啉分光光度法直接测定挥发酚、气相色谱法和高效液相色谱测定烟草的挥发酚和多酚类物质。Richard R. Bakera 等人对弗吉尼亚烤烟和美式混合型卷烟中的酚类物质和醛类物质作了分析^[2],烤烟和美式卷烟的苯酚含量分别是 18.9 和 9.8 μ g/支。2000 年李忠、王岚等人^[3,4]采用新型自动水蒸气蒸馏仪对烟草中的挥发酚进行蒸馏,得到的挥发酚用 4-氨基安替吡啉进行测定,得到的结果用苯酚进

基金项目:国家烟草专卖局科技项目“干燥过程香味物质损失与补偿技术研究”(国烟科[2004]No 615)。

第一作者简介:于瑞国,男,1976 年出生,黑龙江人,主要从事烟草化学、仪器分析方向的研究,本科,华南理工大学化学与化工学院在读工程硕士,独立或与他人合作公开发表论文 4 篇,在烟草学会年会暨论文研讨会中发表论文 3 篇,参与多项省级、国家级科研项目。通信地址:510660 广东省广州市天河区天力街 10 号 401 房,广州秘理普天然植物技术发展有限公司, Tel: 020-62880232, E-mail: yu-ruiguo@163.com。

通讯作者:蔡明招,女,1949 年出生,华南理工大学分析化学专业首席教授,硕导,主要从事仪器分析和天然植物的提取及合成等方面研究工作。通信地址:510641 广州市天河区五山路华南理工大学化学与化工学院 15 号楼。

收稿日期:2008-08-04, **修回日期:**2008-09-16。

行表示,该方法虽然可以直接测定烟草挥发酚的总量,仍属于半手工的操作方式,其实用性和准确度都会受到一定的限制。赵明月^[9]利用溶剂萃取、酚类物质的硅醚化和毛细 GC,分析了河南中二烤烟等原料和国内外主要烤烟的烟气中 19 种酚类物质,该方法可以准确的测定烟草中各种酚类物质的组成成分及含量,但需要复杂的衍生化,操作比较麻烦,无法满足快速测定挥发酚的需要。欧阳清等人^[10]采用 HPLC 定量分析异丙烷萃取主流烟气中的酚类物质,主要酚类物质为苯酚和对苯二酚。

笔者从 2006 年开始关注挥发性酚类物质对烟草的毒副影响,力图建立一种可以直接快速测定烟草挥发性酚类总量的方法,在李忠等人的基础上,参考中国环保局对水和废水中挥发酚监测的要求^[7],建立了在线蒸馏、连续流动分析的方法测定烟草中的挥发酚,具有完全仪器操作,自动快速分析的特点。

1 材料与方方法

1.1 仪器和试剂

AA3 型连续流动化分仪 (德国 BRAN+LUEBBE

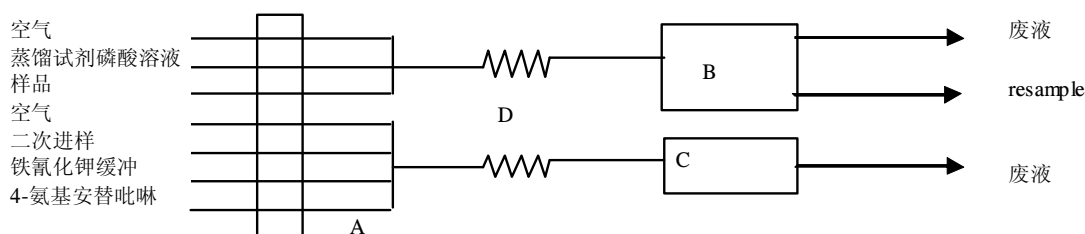


图 1 流路简图

注:样品速率:20 个/h;进样:90s;清洗:90s;蒸馏温度:155℃;检测波长:505nm。

A:蠕动泵;B:在线蒸馏装置;C:检测器;D:反应器

2 结果与分析

2.1 测定波长的选择及显色时间的确定

取 1mg/L 苯酚标准溶液 60ml,4-安替吡啉试剂 15ml,铁氰化钾 11ml,用 KOH 溶液调 pH 至 10.0 后用去离子水定容到 100ml。其最大吸收在 505nm 处,吸光度在 15min 后达到稳定。

2.2 pH 值的影响

取 4-氨基安替比林溶液 15ml,铁氰化钾溶液 11ml,10mg/L 苯酚标准溶液 50ml 混匀定容至 100ml,分别移取 15ml 混合液,用 KOH 溶液调 pH 值为 6、7、8、9、10、11、12,再定容至 100ml。用紫外-可见分光光度计测定其吸光度,pH 值对显色的影响如图 4。

如图 2 所示,pH 在 8.5~9.0 时反应具有最大的灵敏度,但是在该条件下,会增加苯胺和酮烯醇与 4-氨基安替比林反应的可能性,为显色反应带来干扰,适当增加体系的碱性时,可以很好地降低这种干扰;同时在 pH 为 10.0~11.0 时,灵敏度保持相对稳定,对分析操作

公司);紫外-可见分光光度仪(北京普析通用公司);氢氧化钾溶液:1.0mol/L;铁氰化钾缓冲溶液:pH10.3,硼酸 3.000g、氯化钾 5.000g,铁氰化钾 2.000g 溶于 800ml 去离子水,用氢氧化钾调节 pH 至 10.3,定容至 1000ml;4-氨基安替比林:0.200g 4-氨基安替比林,溶于 800ml 去离子水中定容至 1000ml;蒸馏试剂磷酸:160ml 磷酸溶于 800ml 去离子水中,稀释至 1000ml;1000mg/L 苯酚标准溶液,10mg/L 苯酚标准溶液。

实验开始于 2006 年 10 月,在秘理普天然植物技术有限公司实验室开展

1.2 样品的制备与测定

试样粉随后过 40 目筛,称取 0.25g 于 50ml 具塞锥形瓶中,加入 25ml 去离子水震荡萃取 30min,过滤,前 5~10ml 滤液弃去,上机测定。

1.2.1 试验方法 烟草萃取液进入在线蒸馏装置,在适宜条件下进行蒸馏,馏出液冷却后二次进样,在 4-氨基安替吡啉/铁氰化钾体系中测定。

1.2.2 化分仪实验装置和参数配置(图 1)

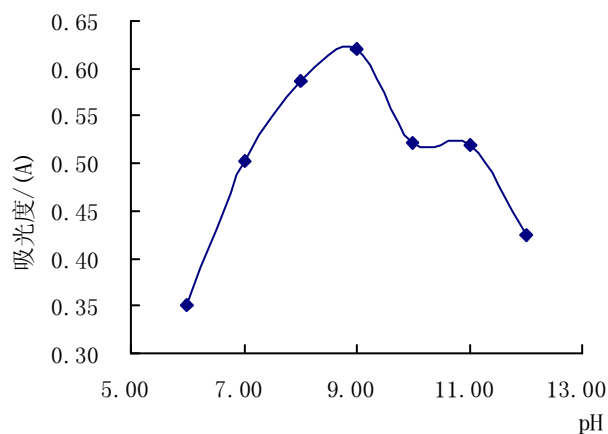


图 2 反应 pH 对挥发酚的影响

有利,因此选择反应的 pH 为 10.0。

2.3 4-氨基安替比林浓度和缓冲溶液铁氰化钾浓度的影响

4-安替吡啉的准确度是影响反应灵敏度和重现性的一个重要因素。固体 4-安替吡啉是淡黄色,

易潮分解,氧化变质后颜色变红,增加本底颜色,影响测定。

取 10mg/L 的苯酚 60ml, 铁氰化钾溶液 11ml, 分别移取 4- 安替吡啉溶液 14、16、18、20、22、24、26、28ml (同时以不加苯酚的体系做空白), 用 KOH 溶液调 pH 值为 10.0, 定容到 100ml。

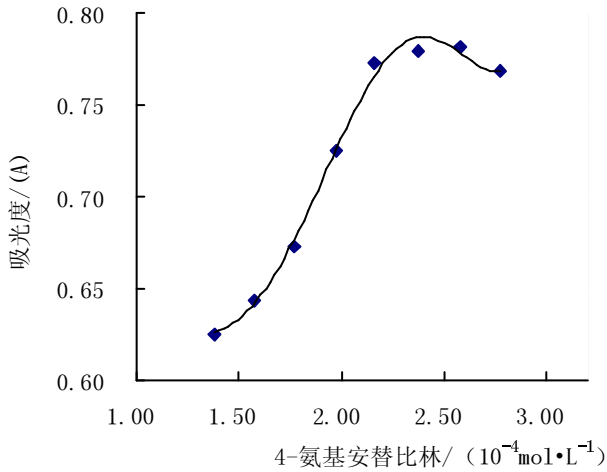


图 3 4-氨基安替比林对吸光度的影响

取 10mg/L 的苯酚 60ml, 4- 安替吡啉溶液 22ml, 分别移取铁氰化钾溶液 9、10、11、12、13、14ml (同时以不加苯酚的体系做空白), 用 KOH 溶液调 pH 值为 10.0, 定容到 100ml。

如图 3、图 4 所示, 较适宜的 4- 安替吡啉和铁氰化钾的使用量分别是 24ml 和 11ml。

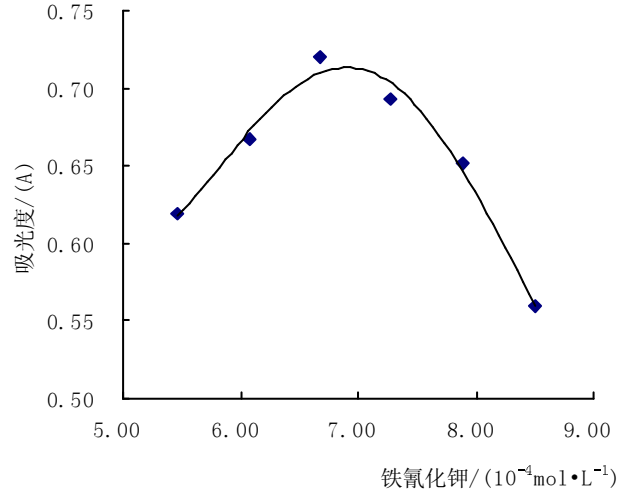


图 4 铁氰化钾溶液对显色影响结果

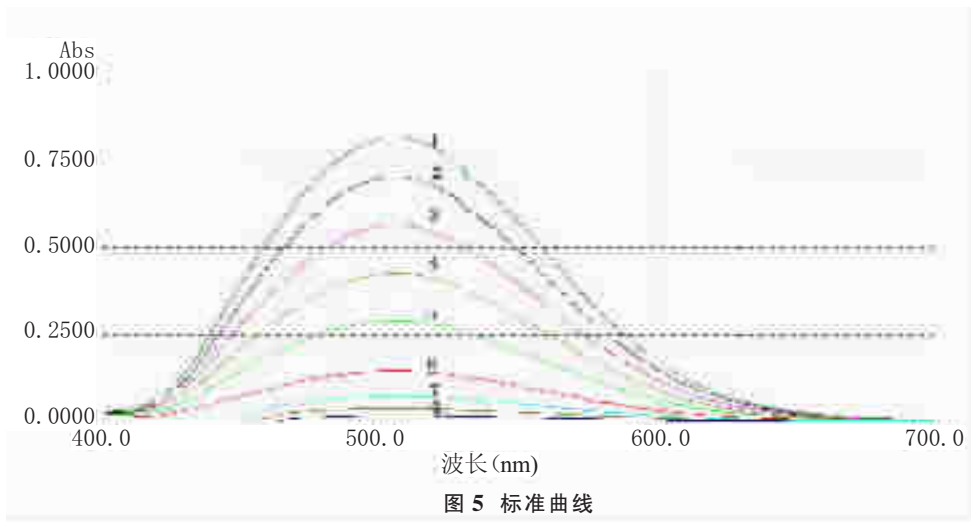


图 5 标准曲线

2.4 标准曲线

如图 3、图 4 所示, 择取铁氰化钾溶 11ml、4- 氨基安替比林溶液 24ml, 其他试验条件不变, 加入适量的 10mg/L 的苯酚定溶到 100ml, 使苯酚浓度分别为 0.01、0.25、0.50、1.00、2.00、3.00、4.00、5.00、6.00mg/L。400~700nm 范围内扫描, 其谱图如图 5 所示, 苯酚溶液的浓度在 0~6.00mg/L 范围与吸光度成良好线性 (R=0.9996)。

2.5 检出限及精密度

对低浓度标准溶液 (25μg/L) 重复测定 15 次, 其检出限为 3.9μg/L (S/N=3)

对某一烤烟、白肋烟、晒烟浸提液平行测定 10 次, 其标准偏差及变异系数分别为: 烤烟浸提液

(0.019mg/L, RSD = 1.9%); 白肋烟浸提液 (0.015mg/L, RSD=2.6%); 晒烟浸提液 (0.019mg/L, RSD=2.9%)

该方法测定烟草的标准偏差在 0.01~0.03 之间, 变异系数在 1.9%~3.0%之间, 可见该方法具有较高的实验精度和较好的检出限, 可以用来测定烟草中的挥发酚。

2.6 回收率测定

采用加标回收的方法做回收率实验。结果如表 1 所示。

2.7 样品的测定

按照上述条件测定 4 种烟叶和一种卷烟的挥发酚含量, 测定结果如表 2。

表 1 回收率实验

	萃取液含量/(mg·L ⁻¹)	有效加标量/(mg·L ⁻¹)	实测值/(mg·L ⁻¹)	回收率	平均回收率
烤烟	0.6875	0.2	0.8885	100.5%	98.5%
		0.3	0.9956	102.7%	
		0.6	1.1647	95.4%	
白肋	0.5929	0.2	0.7969	102.0%	101.1%
		0.3	0.8942	100.4%	
		0.6	1.0986	101.1%	
晒黄	0.6504	0.2	0.8498	99.7%	101.1%
		0.3	0.9574	102.3%	
		0.6	1.1569	101.3%	

表 2 不同样品的挥发酚含量

样品	标样卷烟 2 号	凉山 C2L	云南 C3L	贵州 C3L	云南 B1F
挥发酚/($\times 10^{-2}$ mg·g ⁻¹)	7.032	5.858	6.825	6.914	8.154

3 讨论

3.1 对单等级烤烟原料和卷烟样品挥发酚的测定结果与文献 2 报道的结果相近。文献^[2-5]表明烟草中的挥发酚主要是苯酚(约占挥发酚总量的 50%~70%),且其他挥发酚(如甲酚)对人体的危害与苯酚相似,因此烟草中挥发酚总量可以近似用苯酚表示。

3.2 现有对烟草挥发酚的分析较多采用气相或液相色谱法,虽然可以得到较完整的挥发酚各项组成成分的含量,但是需要较复杂的衍生化处理和必要的分离时间,相应地限制了对烟草样品的分析能力。在线蒸馏连续流动法则较好地解决了这个问题,可以直接获得烟草挥发酚的总量(以苯酚计),并且分析能力可以达到每小时 40 个样品。

4 结论

4.1 建立了烟草及烟草制品中挥发酚的连续流动测定方法。

4.2 烟草及烟草制品的萃取液,酸性条件下,于 155℃ 直接蒸馏,蒸馏得到的挥发酚与安替吡啉和铁氰化钾

反应,生成一种粉红色物质,在 505nm 波长处测定。

4.3 该方法的检出限(s/n=3)为 3.9 μ g/l,平均回收率为 98.5%~101.1%,相对标准偏差为 1.9%。

参考文献

- [1] 张保振.中国烟草大辞典.北京:中国经济出版社,1992.
- [2] Richard R. Bakera, Jose' R. Pereira da Silvab, Graham Smitha. The effect of tobacco ingredients on smoke chemistry.Part I: Flavourings and additives, Food and Chemical Toxicology 42S, 2004:3-37.
- [3] 李忠,蒋次清,施红林.新型自动水蒸气蒸馏仪蒸馏测定烟草及其制品中挥发酚的方法研究.云南烟草,2000:2.
- [4] 王岚,方瑞斌,杨光宇,等.固相萃取光度法测定烟草中的挥发酚.分析试验室,2002,3(21),2:31-32.
- [5] 赵明月,周富臣.卷烟主流烟气中酚类物质的毛细管气相色谱分析.中国烟草学报,1992,2:1-14.
- [6] 欧阳清.高效液相色谱法定量分析主流烟气中的酚类物质.上海烟草,1994,3:48-49.
- [7] 国家环保局“水和废水监测分析方法”编委会编.水和废水监测分析方法.第三版.北京:中国环境科学出版社.1989.