

微波辅助萃取应用于提取烟叶中茄尼醇的研究^{*}

张 征^{1,2}, 武永昆², 尹海川¹, 林 军¹

(1. 云南大学 应用化学系, 云南 昆明 650091; 2. 云南中科生物产业有限公司, 云南 昆明 650106)

摘要: 研究了微波辅助萃取烟叶中茄尼醇的方法, 对微波功率、辐射时间和萃取溶剂等影响微波萃取的条件进行了筛选, 并与室温浸提法和加热回流法进行了比较. 结果表明, 微波辅助萃取法具有萃取速度快、溶剂量少、萃取效率高等优点; 该方法也可用于测定烟叶中茄尼醇含量过程中的样品处理.

关键词: 茄尼醇; 微波辅助萃取; 烟叶

中图分类号: O 658.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-7971(2005)02-0157-04

茄尼醇(solanesol)是一种不饱和的聚异戊二烯醇, 属三倍半萜醇^[1], 分子式为 $C_{45}H_{74}O$, 相对分子质量 631, 纯品为白色固体粉末, 熔点 41 °C, 溶于丙酮、烃类等有机溶剂, 不溶于水. 茄尼醇在生物化学和药物化学中有着非常重要的作用, 本身具有抗菌、消炎和止血作用, 同时是合成心血管疾病、抗癌、抗溃疡等药物的中间体, 如作为合成辅酶 Q_{10} 和维生素 K_2 的原料^[2].

茄尼醇主要存在于烟草、马铃薯和桑叶中, 在烟叶中的含量约占烟叶总质量的 0.3%~3%. 目前国内外提取茄尼醇的方法主要是采用正己烷等有机溶剂进行加热抽提^[3~5], 也有报道采用超声波和超临界技术进行提取^[6,7], 这些提取方法大多存在提取时间长, 溶剂用量大和提取率较低等问题.

微波辅助萃取(Microwave-assisted extraction, 简称 MAE)是目前正在研究开发的一种新的萃取技术, 具有选择性高、操作时间短、溶剂量少的特点. 国内外将微波辅助萃取用于天然产物的提取, 取得了一系列的成果^[8~10].

本文报道应用微波辐射对烟叶中的茄尼醇进行萃取的研究结果, 并将微波萃取法与室温浸提法和加热回流法等常规提取方法进行了比较.

1 实 验

1.1 实验设备及原料

1.1.1 萃取设备 微波化学反应器, 由南京江陵仪器厂以松下 NN-S570MFS 型家用变频微波炉改装而成. 具有连续不间断的功率输出, 可调整功率大小和时间. 微波炉顶部设有适用于安装回流装置同时保证无微波泄漏的截止波导.

1.1.2 原料 茄尼醇标准品(美国 SIGMA 公司, $w \geq 90\%$), 工业石油醚(60~90 °C), 正己烷, 甲醇, 乙醇, 乙酸乙酯等均为分析纯商品, 烟叶(云南省烟草工业研究院提供, $w(H_2O) \leq 3\%$, 茄尼醇质量分数为 0.245%, 测定方法见 2.3).

1.1.3 定量分析设备及分析条件 Agilent LC-1100 型高效液相色谱仪, 柱型: Hypersil ODS ($\varnothing 4.0 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}$); 流动相: $V(\text{甲醇}): V(\text{乙醇}) = 75: 25$; 流速 1.0 mL/min; 柱温: 室温; 紫外检测波长: 211 nm; 保留时间: 10.6 min.

1.2 萃取实验

1.2.1 微波辅助萃取 准确称取粉碎后的烟叶 10 g 加入到 250 mL 的圆底烧瓶中, 在烧瓶中加入定量溶剂, 置于微波化学反应器中, 设置微波功率为 280 W, 设定辐射时间, 辐射完成后, 用冷水冷却至室温, 倾倒入大部分溶液并过滤, 烧瓶中再加入

* 收稿日期: 2004-09-16

基金项目: 云南省技术创新人才基金(2001PY011); 云南大学校基金资助项目(2003Q001A).

作者简介: 张 征(1970-), 女, 硕士生, 主要从事有机分离分析及工艺方面的研究.

定量溶剂,上述操作过程共进行 4 次,最后用 30 mL 溶剂洗涤滤渣,合并滤液,旋转蒸发回收溶剂,称量所得萃取物的质量并用 HPLC 测定其中的茄尼醇含量.在实验中选择 4 种溶剂进行了试验:正己烷、石油醚、溶剂 I ($V(\text{石油醚}):V(\text{乙醇})=90:10$)、甲醇.在选定溶剂后,对溶剂用量,萃取时间进行了选择试验.

1.2.2 室温浸提 称取已粉碎的烟叶 10 g 加入 500 mL 的锥形瓶中,在瓶中加入 500 mL 溶剂,在磁力搅拌器搅拌下萃取 2.5 h,过滤,用 30 mL 溶剂洗涤滤渣,合并滤液,旋转蒸发回收溶剂,称量所得萃取物的质量并用 HPLC 测定其中的茄尼醇含量.

1.2.3 加热回流提取 称取已粉碎的烟叶 10 g 加入 500 mL 的锥形瓶中,加入 500 mL 溶剂,锥形瓶口接有冷凝管,在磁力搅拌器搅拌下加热至沸,萃取 2.5 h,过滤,并用 30 mL 溶剂洗涤滤渣,合并滤液,旋转蒸发回收溶剂,称量所得萃取物的质量并测定其中的茄尼醇含量.

2 结果与讨论

2.1 微波辅助萃取条件的选择

2.1.1 溶剂的选择 设置微波辐射功率为 280 W,辐射时间为 5 min,固液比(固体物料质量与液体物料体积之比, g/mL) 为 1:10,共萃取 4 次,以不同的溶剂进行微波萃取的溶剂选择试验,结果见表 1.

表 1 不同溶剂对微波萃取茄尼醇的影响

Tab. 1 Influence of solvent on extraction yield and recovery of solanesol by MAE

溶 剂	提取率/%	茄尼醇提取率/%
正己烷	2.63	74.51
石油醚	3.22	73.04
溶剂 I	3.84	96.49
甲醇	15.37	94.97

提取率 = (萃取物质量/烟叶质量) \times 100%; 茄尼醇提取率 = (萃取物中茄尼醇质量/烟叶中茄尼醇质量) \times 100%, 下同.

从表 1 可以看出,在微波辅助萃取中,溶剂对提取率的影响较大,由于茄尼醇是弱极性物质,在使用弱极性的正己烷、石油醚作为溶剂时,整个萃取体系的极性较低,对微波的吸收能力较差,导致

提取效率低;在加入一定量的乙醇后,提高了萃取体系的极性,对微波的吸收能力增加,提取率有了较大提高;甲醇是强极性溶剂,在通常条件下对茄尼醇的溶解性并不好,但在微波的作用下,使用甲醇作溶剂的提取率也较高,不过由于其极性过大,降低了萃取的选择性.因此我们在本试验中选用溶剂 I 作为微波萃取的溶剂.从另一方面看,采用石油醚作为萃取剂取得的效果与正己烷作萃取剂时没有明显的差距,但石油醚的价格相对较低,应有较好的应用前景.

2.1.2 辐射时间的选择 设置微波辐射功率为 280 W,采用溶剂 I 为萃取溶剂,每次萃取溶剂用量(固液比)为 1:10,总溶剂用量为 1:40,考察辐射时间对萃取产率的影响,结果见表 2.

表 2 不同辐射时间对微波萃取茄尼醇的影响

Tab. 2 Influence of time on extraction yield and recovery of solanesol by MAE

辐射时间/min	提取率/%	茄尼醇提取率/%
10	3.03	85.41
20	3.84	96.49
25	4.05	99.61
30	5.79	98.74

从表 2 可知,随辐射时间的增加,提取效率上升,25 min 时提取率已接近 100%,综合考虑经济因素和操作的方便,选择 20 min 为最佳辐射时间.

2.1.2 溶剂用量的选择 设置微波辐射功率为 280 W,辐射时间为 20 min,溶剂 I 为溶剂,选择适当的溶剂量,结果见表 3.

表 3 不同溶剂对微波萃取茄尼醇的影响

Tab. 3 Influence of volume of solvent on extraction yield and recovery of solanesol by MAE

溶剂用量(固液比)/ ($g \cdot mL^{-1}$)	提取率/%	茄尼醇 提取率/%
1:8	3.24	77.91
1:10	3.84	96.49
1:12	3.90	98.27
1:14	4.03	98.82

从表 3 可知, 当溶剂用量达到 $m(\text{固}): V(\text{液}) = 1: 10$ (此时完成整个萃取过程溶剂的总用量接近 1: 40) 以后, 随溶剂用量的增加, 茄尼醇的提取率没有明显增加, 故采用 1: 10 为最佳溶剂用量(固液比)。

根据上述试验结果, 最终微波萃取的条件确定为: 以溶剂 I 为萃取溶剂, 微波功率为 280 W, 辐射时间为 20 min, 溶剂用量(固液比) 1: 10。

2.2 微波辅助萃取与常规提取方法的比较 采用选取的微波萃取条件进行试验与常温提取和回流提取的试验结果见表 4, 实验中采用的溶剂均为溶剂 I。

由表 4 可知, 微波辅助萃取法的萃取效率明显高于其它 2 种方法, 特别是缩短了萃取时间并减少了溶剂用量, 但对微波辅助萃取而言, 溶剂的极性对提取率的影响较大, 选择合适的溶剂非常重要, 不但提高茄尼醇的收率, 也具有较好的选择性。

通过上述试验还可看出微波辅助萃取可在短时间内获得较高的提取率, 从表 2 中数据来看, 当微波功率为 280 W, 采用正己烷和乙醇($V(\text{石油醚}): V(\text{乙醇}) = 90: 10$) 作溶剂, 溶剂用量为 1: 40, 辐射时间为 25 min 时, 提取率已接近 100%, 与加热回流相比大大缩短了提取时间, 所以在测定烟叶中茄尼醇含量时, 可以采用微波辅助萃取作为制样方法, 在保证茄尼醇回收率的同时, 缩短了样品处理时间, 而且选择性也较好, 引入的杂质较少, 采用高效液相色谱进行分析时有利于样品峰的分离并提高色谱柱的使用寿命。

2.3 烟叶中茄尼醇质量分数的测定 采用微波辅助萃取和常用的加热回流对烟叶进行提取, 用 HPLC 检测提取物中的茄尼醇质量分数。萃取中采用的溶剂均为 $V(\text{石油醚}): V(\text{乙醇}) = 90: 10$ 的混合溶液, 结果见表 5。

表 4 不同提取方法对茄尼醇提取率的影响

Tab. 4 Influence of different methods on extraction yield and recovery of solanesol

提取方法	萃取时间/min	溶剂用量(固液比)/(g·mL ⁻¹)	提取率/%	茄尼醇提取率/%
微波辅助萃取	20	1: 40	3.84	96.49
室温浸提	150	1: 50	3.95	76.74
加热回流	150	1: 50	4.05	94.00

表 5 不同提取方法烟叶中茄尼醇的质量分数测定结果

Tab. 5 The solanesol content of tobacco leaves from different methods

提取方法	萃取时间/min	溶剂用量(固液比)/(g·mL ⁻¹)	w(茄尼醇)/%
微波辅助萃取	30	1: 60	0.245
加热回流	150	1: 60	0.237

从表 5 看, 采用微波萃取测定的茄尼醇质量分数更准确, 而且时间较短, 在实验中还采用薄板层析对提取液进行监测, 以确保将烟叶中的茄尼醇完全提取出来。在采用 HPLC 测定茄尼醇质量分数时, 根据文献[10]采用反相高效液相色谱的方法, 对流动相和检测波长进行了改进, 获得了较好的分离效果。

3 结 论

应用微波辅助萃取烟叶中的茄尼醇, 具有萃取速度快, 溶剂用量少, 萃取效率高的优点, 具有较好的应用前景, 特别适用于分析测定烟叶中茄尼醇质量分数时的样品处理, 可有效减少样品处理时间, 提高工作效率。

参考文献:

- [1] 段文贵, 陈小鹏, 安鑫南. 从烟草中提取茄尼醇的方法[J]. 林产化工通讯, 2000, 35(2): 21—25.
- [2] WEST D D. Synthesis of coenzyme Q10, ubiquinone [P]. US: 20040151711, 2004.
- [3] TAKEMURA M, AMANO M. Method of gathering solanesol [P]. JP: 54138510, 1979.
- [4] ASAHINA M, KATO H, FUKAWA H. Process for the manufacture of solanesol [P]. US: 4013731, 1977.
- [5] 王幼君, 李淑芬. 茄尼醇和尼古丁的提取和工艺研究[J]. 天津化工, 2003, 17 (3): 37—40.
- [6] KECA M, GROSS S, MALNAR I, et al. Isolation of solanesol from tobacco (*Nicotiana glauca* L.) by classic extraction and ultrasound extraction [J]. *Farmaceutski Glasnik*, 1997, 53 (6): 173—182.
- [7] 杨群力, 吴建华. 茄尼醇的提取工艺 [P]. CN: 1294111, 2001.
- [8] PARE J R. Microwave extraction of volatile oils [P]. US: 5338557, 1994.
- [9] 郝金玉, 黄若华, 王平艳. 微波萃取除虫菊的研究 [J]. *农药*, 2001, 40(8): 15—16.
- [10] 陶云海, 任周阳, 刘国清, 等. 云南废次烟叶中茄尼醇的提取及含量测定 [J]. *云南大学学报(自然科学版)*, 2002, 24(2): 151—152.

Research on the use of the microwave-assisted extraction (MAE) for the extraction of solanesol from tobacco leaves

ZHANG Zheng^{1,2}, WU Yong-kun², YIN Hai-chuan¹, LIN Jun¹

(1. Department of Applied Chemistry, Yunnan University, Kunming 650091, China;

2. Yunnan Zhongke Bio-Industry Co., Ltd., Kunming 650106, China)

Abstract: The extraction of solanesol from tobacco leaves assisted with microwave was studied. The effects of microwave assisted extraction was compared with those of common maceration extraction at room temperature and reflux extraction. The result indicates that microwave extraction is faster, more efficient and can get higher extraction yield. This method also can be used to prepare samples for analysis of solanesol in tobacco leaves.

Key words: MAE; solanesol; tobacco leaves