

烟叶及提取物中茄尼醇的高效液相色谱标准化测定方法研究

潘 葳¹, 刘文静¹, 翁伯琦^{1*}, 张望兴²

(1.福建省农业科学院农业质量标准与检测技术研究所,福建省农业科学院中心实验室,福建省精密仪器农业测试重点实验室,福州 350003; 2.福建省三明金叶复烤有限公司,福建 三明 365001)

摘要:为了更好地理解和应用笔者制定的国家标准《烟叶和烟叶提取物中茄尼醇的测定 - 高效液相色谱法》,笔者详细说明了该方法的技术要点,筛选出最佳的提取条件和皂化条件。高效液相色谱检测条件为:采用 Waters Atlantis T3- C₁₈ 柱(4.6 × 150 mm, 3 μm),柱温 35 °C;以异丙醇-甲醇(体积比为 30 : 70)为流动相,流速为 1.0 mL/min;采用二极管阵列检测器,检测波长 213 nm。实验结果表明,该方法对茄尼醇的检出限为 1 mg/kg,在 0.1 ~ 5.0 g/100g 线性范围内,茄尼醇含量与峰面积的相关系数达 0.9999 以上;方法加标回收率达到 95%以上;相对标准偏差小于 5% (n=6)。该方法快速、简便、具有良好的精密度和准确性。

关键词: 高效液相色谱; 茄尼醇; 烟叶; 烟叶提取物; 正交法

中图分类号 :S572.01 ;TS41⁺1

文章编号 :1007-5119(2013)04-0060-07

DOI :10.3969/j.issn.1007-5119.2013.04.013

Determining Solanesolin in Tobacco Leaves and Its Extracts Using HPLC Standardized Method

PAN Wei¹, LIU Wenjing¹, WENG Boqi^{1*}, ZHANG Wangxing²

(1. Institute of Quality Standards and Testing Technology for Agro-products, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Central Laboratory, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fujian Key Laboratory of Precision Measurement of Agriculture, Fuzhou 350003, China; 2. Golden Leaf Tobacco Redrying Co., Ltd, Sanming, Fujian 365001, China)

Abstract: We elucidate a Chinese standard: Determining solanesolin in tobacco leaves and its extracts using HPLC, so that the users can understand and use this standard more proficiently. The best extraction method and condition of saponification was screen out. The HPLC conditions were as follows: Waters Atlantis T3 C₁₈ column (4.6 mm i.d.×150 mm, 3 μm) was used at 35 °C with isopropanol-methanol (30:70, v/v) as the mobile phase with a flow rate of 1.0 mL/min, detector UV-213 nm. The detection limit for tobacco leaves and its extracts was 1 mg/kg. The linear range was from 0.1 to 5.0 g/100g, and correlation coefficients were greater than 0.9999. The recoveries were greater than 95% with relative standard deviations of less than 5%. The method is rapid, simple and accurate.

Keywords: high performance liquid chromatography; solanesol; tobacco leaf; extracts of tobacco; orthogonal method.

烟草中富含茄尼醇,主要用于合成辅酶 Q10、维生素 K、抗癌增效剂 SDB 等,是当前市场上炙手可热的医药化工中间体,同时它本身也具有抗菌、消炎和止血的作用。全国每年约有 50 万 t 这样的废次烟叶被焚烧,不仅浪费资源,而且造成土壤碱化,对生态环境造成污染,如果这些废次烟叶全部变废为宝提取茄尼醇,能产生近百亿元的经济效益,既

保护了生态环境,又能充分利用烟草生产产业的废弃物,实现烟草资源的高值化利用^[1-8]。从烟叶提取的茄尼醇产品中茄尼醇含量直接决定了它的市场价格,因此迫切需要规范、准确的检测方法来检测其含量。检测茄尼醇的方法很多,有库伦滴定法^[9]、气相色谱法^[10]、HPLC 法^[11-17]及液质联用法^[18]。其中库伦滴定法重现性差;气相色谱法要经过衍生反

基金项目:国家标准制订项目{国标委综合[2010]87号计划编号:20100578-T-456}

作者简介:潘 葳,女,副研究员,研究方向为农产品营养及质量安全检测及评价。E-mail: 870993292@qq.com

*通信作者, E-mail: boqiwen@yahoo.com.cn

收稿日期:2013-01-10

应,样品处理麻烦;液质联用法所用仪器设备比较高端,应用不普遍;液相色谱检测结果比较理想,但方法很多,色谱条件各有不同,目前尚无统一、规范的相关检测的标准方法,因此,经国标委批准,我们制定了国家标准《烟叶和烟叶提取物中茄尼醇的测定—高效液相色谱法》,使检测结果更加规范和准确可靠,从而能够更加科学地评价烟叶和烟膏的市场价值。

1 材料与amp;方法

1.1 仪器、试剂和材料

仪器:Waters 2695 高效液相色谱系统,Waters 2996 二极管阵列(PDA)检测器(或紫外检测器),Millennium 32 色谱工作站,粉碎机(天津太斯特仪器有限公司),超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司),恒温振荡器、离心机(金坛市江南仪器厂),XW-80A 旋涡混合器(上海医科大学仪器厂),索氏提取装置(金坛市晶玻实验仪器厂),微量可调移液器(Eppendorf),脱脂中速滤纸($\phi=15$ cm 杭州特种纸业有限公司),滤膜($0.2\ \mu\text{m}$,直径 25 mm 的聚砜膜或相当者)。

主要试剂:茄尼醇标准品(Sigma,纯度 $\geq 99.9\%$,美国),异丙醇(山东禹王),甲醇(HPLC级,TEDIA,美国),水为超纯水(蒸馏水再经过Millipore超纯水系统制备),正己烷、无水乙醇、甲醇、丙酮、石油醚、氢氧化钠均为分析纯。

材料:烤烟由福建省三明金叶复烤有限公司提供;白肋烟由中国烟草白肋烟试验站(湖北省烟草科研所)提供;香料烟由湖北省十堰市郧西县烟叶分公司提供;烟膏由烟草提取,自制。

1.2 色谱分析条件

色谱柱:Atlantis T3 C_{18} 4.6×150 mm, $3\ \mu\text{m}$ (Waters)。流动相:异丙醇-甲醇溶液(体积比为 30:70)。流速:1.0 mL/min。柱温:35 $^{\circ}\text{C}$ 。紫外检测波长:213 nm。进样体积:20 μL 。

在上述色谱条件下样品中茄尼醇与杂质得到快速有效分离,分离度大于 1.5,茄尼醇色谱峰保

留时间在 7 min 左右。

1.3 试液配制

标准储备液:精密称取茄尼醇标准样品 0.05 g (精确到 0.0001 g),用正己烷溶解并定容至 100 mL,制成 0.5 mg/mL 标准溶液,4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱内保存。

标准工作液:准确移取 0.1、1、2、3、4、5 mL 茄尼醇标准储备溶液(4.7)于 50 mL 棕色容量瓶中,用流动相溶液稀释并定容至刻度,得到一系列的标准工作溶液(质量浓度分别为 1、10、20、30、40、50 $\mu\text{g}/\text{mL}$),现配现用。

1.4 试样的处理

1.4.1 烟叶 (1) 试样的制备 将烟叶在 55 $^{\circ}\text{C}$ 的通风干燥箱中干燥至恒重,冷却至室温,粉碎,过 40 目筛,制备的烟叶粉末保存于干燥器内备用。

(2) 茄尼醇的提取 称取约 2 g (精确到 0.0001 g) 烟叶粉末于 50 mL 具塞离心管中,加正己烷 20 mL,旋涡振荡 2 min,于 65 $^{\circ}\text{C}$ (正己烷沸点为 80.7 $^{\circ}\text{C}$,高于 65 $^{\circ}\text{C}$ 萃取时溶剂易挥发) 超声波萃取 15 min,萃取功率为 250 W,离心 10 min,上清液移入 50 mL 容量瓶中。用 15 mL 正己烷重复以上“旋涡振荡 2 min,……离心 10 min”步骤,将沉淀物重复提取 2 次,合并正己烷层于 50 mL 容量瓶中,定容至刻度。

(3) 游离茄尼醇测定的试样处理 净化:取 4 mL 上述 1.4.1 (2) 提取液于 10 mL 具塞离心管中,加入约 6 mL 蒸馏水,涡旋振荡 3 min,去除水溶性杂质,离心 10 min 分层。

稀释:取一定体积的上层正己烷提取液,用流动相稀释并定容至棕色容量瓶中,使溶液中茄尼醇浓度落在线性范围内,经 0.2 μm 滤膜过滤后待上机测定。

(4) 总茄尼醇测定的试样处理 皂化:取 4 mL 上述 1.4.1 (2) 提取液于 100 mL 具塞棕色三角瓶中,加入 4 mL 0.02 mol/L 的 NaOH 溶液(稀释剂为乙醇),密封好塞子,充分混匀,在恒温振荡器中 60~65 $^{\circ}\text{C}$ 水浴振荡,皂化 30 min。

浓缩:皂化后的溶液在 83~87 $^{\circ}\text{C}$ 水浴蒸发至

近干。

定容：加 2 mL 正己烷于三角瓶中，超声 2 min 溶解残渣，转移至另一洁净 10 mL 具塞离心管中，再加 2 mL 正己烷溶解三角瓶中残留物，合并溶液于具塞离心管中。

净化：在上述具塞离心管中，加入约 6 mL 蒸馏水，涡旋振荡 3 min，去除水溶性杂质，离心 10 min 分层。

稀释：同 1.4.1 (3) 稀释。

1.4.2 烟叶提取物(烟膏) 称取约 0.1 g (精确到 0.0001 g) 烟叶提取物，置于 50 mL 容量瓶中，加

入 30 mL 左右正己烷溶解，置于超声波清洗器中超声 5 min，冷却定容至刻度。其余步骤同 1.4.1 (3)、1.4.1 (4) 测定烟膏中的游离茄尼醇和总茄尼醇。

2 结果

2.1 液相色谱分析方法的优化

2.1.1 检测波长的确定 利用二极管阵列检测器采集样品的 3D 图并截取茄尼醇标准品的紫外光谱图(图 1)。从光谱图可以看出，茄尼醇在 210 nm 波长处有最大吸收，考虑到仪器的稳定性，选择 213 nm 为检测波长。

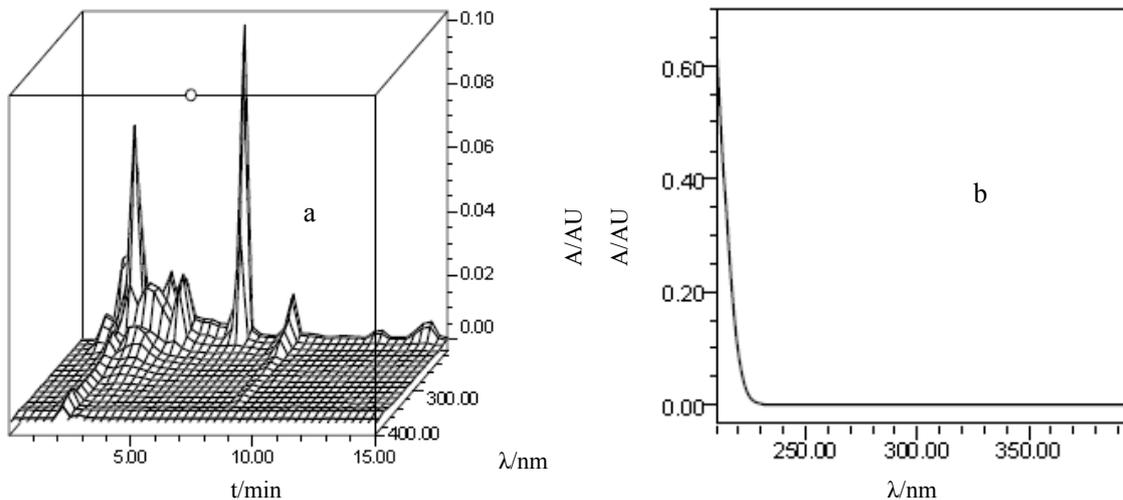


图 1 (a)样品 3D 图谱和(b)茄尼醇紫外光谱图

Fig. 1 (a) 3D graphs of sample and (b) UV spectra of solanesol

2.1.2 流动相的确定 色谱柱选择 Atlantis T3 C₁₈ 柱 (4.6×150 mm, 3 μm)，考察甲醇、甲醇-水、乙腈-水、甲醇-乙腈、异丙醇-乙腈等流动相，发现前 4 种流动相茄尼醇色谱峰尽管也能和杂质很好分离，但色谱峰保留时间太长，流动相为 V(异丙醇):V(甲醇)=30:70 时，茄尼醇与杂质能得到快速有效分离，分离度大于 1.5，茄尼醇色谱峰保留时间在 7.5 min (图 2)。进空白样品保留时间为 7.5 min 时没有出现色谱峰，说明流动相溶剂在 210 nm 处不会对测定产生干扰。

2.2 样品前处理条件的优化

2.2.1 提取条件的优化 本实验考察了索氏提取法和超声波提取法萃取烟叶中的茄尼醇。

(1) 索氏提取法 称取约 2 g (精确到 0.001 g)

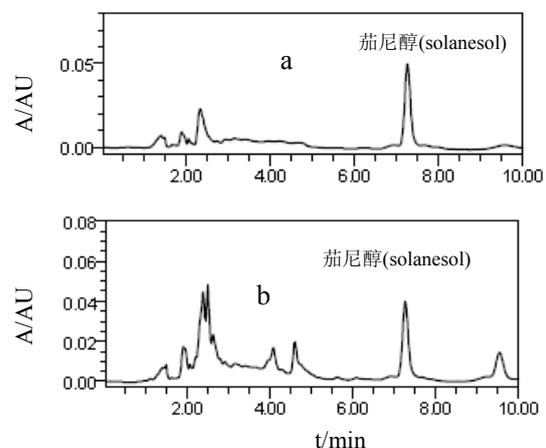


图 2 对照品(a)和样品(b)的高效液相色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms and UV spectra of reference substances (a) and sample (b)

烟叶粉末于滤纸中，包好（样品不可装得太紧，以免影响浸抽效果），滤纸包长度应以可全部浸泡于提取溶剂中为准。将滤纸包放入索氏提取器的抽提管内，下接抽提瓶（规格为 100 mL），在抽提瓶中注入 3/4 容积的提取溶剂，在水浴（用蒸馏水）上加热，使提取液回流，控制提取溶剂回流次数为每小时约 7 次，回流完，取出试样，仍用原提取器回收提取溶剂直至抽提瓶内液体少于 30 mL，取下抽提瓶，擦净瓶外壁，将提取液转移至 50 mL 容量瓶，用提取溶剂分多次将抽提瓶里的物质转移至容量瓶，定容至刻度。本实验考察了 5 种提取溶剂（正己烷、无水乙醇、甲醇、丙酮、石油醚），不同提取时间（2、4、6、8、10、12、14）对烟叶粉末中游离态茄尼醇测定结果的影响，结果见图 3。

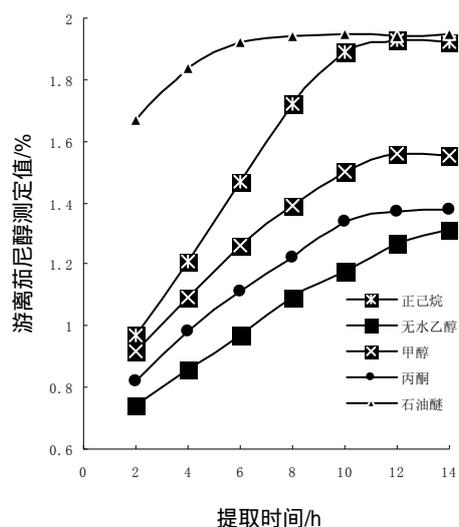


图 3 索氏提取法提取溶剂和提取时间对游离茄尼醇测定值的影响

Fig. 3 The effect of solanesol measured value on different abstracting solvents and time by soxhlet extraction method

从图 3 可以看出，乙醇、甲醇、丙酮对茄尼醇的提取率低。正己烷、石油醚提取率高，而用正己烷提取 8 h 才能提取完全，且正己烷沸点为 80.7 °C，需将水浴温度调高到 99 °C 才能达到理想的回流速度，此时水浴锅里的蒸馏水易挥发，需要不断补充蒸馏水，实验过程繁琐。用石油醚提取 6 h 即能提取完全，石油醚沸点为 30 ~ 60 °C，水浴温度控制

在 80 ~ 85 °C 即能达到理想的回流速度，水浴锅加满水后，蒸馏水挥发很慢，完成一个提取过程不需补充蒸馏水。因此，选用石油醚作为索氏提取法的提取溶剂。

(2) 超声波提取法 按照 1.4.1 (2) 步骤，用正己烷超声萃取得到的茄尼醇测定值为 1.95%。用石油醚代替正己烷，将超声萃取温度改为 35 °C（石油醚沸点为 30 ~ 60 °C，高于 35 °C 萃取时溶剂易挥发），其它条件不变，得到的游离态茄尼醇测定值为 1.91%。两种溶剂都能达到较高的提取率，考虑到正己烷成分比石油醚单纯，对液相色谱测定的干扰少，且正己烷沸点为 80.7 °C，较石油醚不易挥发，故选用正己烷作为提取剂。

(3) 比较两种提取方法，索氏提取法石油醚提取需 6 h。而超声波提取法只需 45 min，既省试剂又省时间，而且操作简单易行，故选择超声波提取法萃取烟叶中的茄尼醇。

2.2.2 皂化条件的优化 (1) 皂化碱的稀释剂及其他皂化条件对皂化率的影响

皂化反应是界面反应，任何影响油水二相分散程度以及界面上二相分子接触的因素，都会影响皂化反应速度和皂化程度，稀释剂是使二相分子接触的环境，故皂化反应的进行需要使用稀释剂。本方法考察了稀释剂及其它皂化条件对皂化率的影响，水、甲醇、乙醇是常用的稀释剂，由于它们沸点不同，故分别对其进行正交试验。

碱用量、碱浓度、皂化温度、皂化时间对皂化率均有显著影响，故移取茄尼醇提取液 9 份，分别以上述 3 种稀释剂溶解 NaOH，对以上 4 因素各因素 3 水平设计 $L_9(3^4)$ 正交皂化试验。以乙醇作稀释剂的因素水平设计见表 1，正交试验结果见表 2。

表 1 因素与水平表
Table 1 Factors and levels

水平	因素			
	碱用量/mL	碱浓度/(mol·L ⁻¹)	皂化温度/°C	皂化时间/min
1	A1=2	B1=0.005	C1=45	D1=30
2	A2=3	B2=0.01	C2=55	D2=40
3	A3=4	B3=0.02	C3=65	D3=50

表2 正交实验设计 $L_9(3^4)$ 及结果

试验号	碱用量 (A)	碱浓度 (B)	皂化温度 (C)	皂化时间 (D)	总茄尼醇测定值/(g·100g ⁻¹)
1	1	1	1	1	1.76
2	1	2	2	2	1.89
3	1	3	3	3	2.11
4	2	1	2	3	1.99
5	2	2	3	1	2.34
6	2	3	1	2	2.02
7	3	1	3	2	1.99
8	3	2	1	3	2.00
9	3	3	2	1	2.54
I	5.76	5.74	5.78	6.64	
II	6.35	6.23	6.42	5.90	
III	6.53	6.67	6.44	6.10	
K1	1.92	1.91	1.93	2.21	T= I + II + III =
K2	2.12	2.08	2.14	1.97	18.64
K3	2.18	2.22	2.15	2.03	
R	0.77	0.93	0.66	0.20	

结果显示,各因素影响大小为碱浓度 > 碱用量 > 皂化温度 > 皂化时间。皂化条件 $A_3B_3C_2D_1$ 测得的茄尼醇含量最高,在皂化条件 $A_3B_3C_2D_1$ 中改变 B_3 ,将碱浓度改为 0.1 mol/L^[19],总茄尼醇测定值为 2.51%,与碱浓度为 0.02 mol/L 的皂化条件的测定结果差别不大,说明皂化条件 $A_3B_3C_2D_1$ 已能够使茄尼醇酯充分皂化。从表2可以看出,皂化温度 55 ~ 65 °C 能皂化充分,且 C_2 、 C_3 测定结果基本一致,故选择该组合为最佳皂化条件,即 4 mL 0.02 mol/L NaOH 的乙醇溶液,60 ~ 65 °C 皂化 30 min。该条件经重复实验 ($n=6$),总茄尼醇测定值 RSD < 5.0%。

甲醇和水作为稀释剂的正交实验结果总茄尼醇测定值均低于乙醇作稀释剂的最佳皂化条件的测定结果。且甲醇沸点为 64.5 °C,乙醇沸点为 78.3 °C,皂化过程甲醇较乙醇较易挥发,同时甲醇毒性较乙醇大,故排除用甲醇作皂化反应稀释剂。而水作稀释剂其与正己烷不能互溶,皂化过程需要不停振荡,操作繁琐。故我们选择乙醇作为稀释剂溶解 NaOH,进行皂化反应。

(2) 碱的种类对皂化率的影响

常用的皂化用碱有 NaOH 和 KOH,通常 KOH 比 NaOH 的催化作用大,而 NaOH 比 KOH 便宜。将皂化条件:“4 mL 0.02 mol/L NaOH 的乙醇溶液,60 ~ 65 °C 皂化 30 min”中 NaOH 改成 KOH 按照

1.4.1 (4) 进行测定,总茄尼醇测定值为 2.57%,说明两种碱对皂化率的影响差别不大,故选用较便宜的 NaOH 作为皂化用碱。

2.3 线性范围与线性方程

取茄尼醇系列标准溶液 (1.3) 各进样 20 μ L 进行测定,以峰面积 Y 对茄尼醇质量浓度 X (μ g/mL) 进行线性回归分析,线性回归方程为 $Y=4.16 \times 10^4 X - 2.96 \times 10^3$,相关系数 $r=0.9999$ 。结果表明,在 1 ~ 50.0 μ g/mL (0.1 ~ 5.0 g/100g) 范围内线性关系良好。

2.4 定量限、检出限及定量计算

以信噪比 (S/N) 约为 10 计定量限 (LOQ),以 S/N 约为 3 计检出限 (LOD),采用空白溶液添加标准溶液的方法,得到定量限为 0.003 μ g/mL (0.0003 g/100g 即 3 mg/kg) 检出限为 0.001 μ g/mL (0.0001 g/100g 即 1 mg/kg)。同时采用外标法定量计算样品中茄尼醇的含量,其计算公式如下:

$$C = \frac{X \cdot A \cdot V}{m} \times 10^{-4}$$

式中:C 为样品中茄尼醇含量,单位为 g/100g; X 为校正曲线中查得的茄尼醇含量,单位为 μ g/mL; A 为样品稀释倍数; V 为样品提取液体积,单位为 mL; m 为取样量,单位为 g。

2.5 方法的回收率

称取约 1 ~ 2 g (精确到 0.001 g) 烟叶粉末于 50 mL 具塞离心管中,添加一定浓度水平的茄尼醇标准溶液,采用 1.4 的实验方法,提取、净化、稀释、过滤后上机检测,测定游离态茄尼醇回收率和精密度。同样称取约 1 ~ 2 g (精确到 0.0001 g) 烟叶粉末,添加一定水平的茄尼醇标准溶液,提取、皂化、净化、稀释、过滤后上机检测,测定总茄尼醇回收率和精密度。每个水平作 6 次平行实验,其不同添加水平的回收率及精密度见表 3,回收率良好。

2.6 方法的精密度

2.6.1 进样重复性 各取一份烟叶、烟膏待测液,按本方法 1.2 色谱条件各重复测定 6 次,结果见表 4,可以看出,RSD 均小于 1%,说明本方法进样重

表 3 茄尼醇加标回收率
Table 3 Recovery of Solanesol test

检测参数	样品名称	取样量/g	茄尼醇含量/ (g·100g ⁻¹)	样品中茄尼醇 含量/mg	加入茄尼醇 量/mg	实测茄尼醇 量/mg	回收率/%	平均回收率/%
游离茄尼醇	烟叶 1	1.1936	1.79	21.4	10	31.32	99.5	98.3
	烟叶 3	2.1813	1.32	28.8	20	48.16	96.8	
	烟叶 6	2.1192	0.891	18.9	40	58.40	98.8	
	烟膏 1	0.1496	18.5	27.7	10	37.58	99.0	
	烟膏 2	0.1211	15.3	18.5	20	38.01	97.4	
总茄尼醇	烟叶 1	1.1986	2.38	28.5	10	38.08	95.5	97.0
	烟叶 3	2.2313	2.56	57.1	20	76.60	97.4	
	烟叶 6	1.0192	1.30	13.2	40	52.00	96.9	
	烟膏 1	0.1253	25.10	31.5	10	41.26	98.1	
	烟膏 2	0.1119	22.20	24.8	20	44.28	97.2	

现性良好。

2.6.2 实验方法本身的重现性 各取一份烟叶、烟膏样品，每个样品称取 6 份，按照 1.4 对样品进行处理后上机测定，结果见表 5。可以看出，*RSD* 均小于 5%，说明本方法具有良好的精密度。

表 4 茄尼醇进样精密度(*n*=6)

Table 4 Precision of injecting of solanesol (*n*=6)

样品	平均值/(g·100g ⁻¹)	标准差	<i>RSD</i> /%
烟叶	0.849	0.005	0.59
烟膏	15.04	0.032	0.21

表 5 茄尼醇检测方法精密度(*n*=6)

Table 5 Precision of the detection method of solanesol (*n*=6)

样品	项目	平均值/(g·100g ⁻¹)	标准差	<i>RSD</i> /%
烟叶	游离茄尼醇	0.75	0.027	3.5
烟叶	总茄尼醇	1.54	0.075	4.9
烟膏	游离茄尼醇	15.41	0.165	1.1
烟膏	总茄尼醇	22.49	0.442	2.0

2.6.3 日间精密度 各取一份烟叶、烟膏样品，每隔 2 d 将样品测定一次，连续测定 6 次，按照 1.4 对样品进行处理后上机测定，计算样品含量，测得烟叶游离茄尼醇 *RSD* 为 3.7%、烟叶总茄尼醇 *RSD* 为 4.7%、烟膏游离茄尼醇 *RSD* 为 1.6%，烟膏总茄尼醇 *RSD* 为 2.2%，*RSD* 均小于 5，说明本方法日间重现性良好。

2.7 实际样品的测定

本实验设定的条件下，我们测定了福建省三明

金叶复烤有限公司提供的 3 种烟叶样品（烤烟、白肋烟、香料烟）、烟梗样品及自制烟膏样品，茄尼醇标样峰与样品中的杂质峰均达到良好的分离，测定结果见表 6。

表 6 不同样品中茄尼醇含量 g/100g

Table 6 Solanesol contents in different samples

样品	游离茄尼醇含量	总茄尼醇含量
烟叶 1 (烤烟)	1.79	2.38
烟叶 2 (烤烟)	0.530	0.737
烟叶 3 (白肋烟)	1.94	2.56
烟叶 4 (白肋烟)	0.972	1.05
烟叶 5 (香料烟)	0.211	0.245
烟叶 6 (香料烟)	0.891	1.30
烟梗	0.0003	0.0005
烟膏 1	18.5	25.1
烟膏 2	14.3	22.2

3 讨 论

我们采用高效液相色谱法建立了烟叶和烟叶提取物（烟膏）中游离态茄尼醇和总茄尼醇测定的国家标准方法，本方法操作简便、快速，灵敏度高，基线平稳、具有良好的精密度和准确性。

烟叶中茄尼醇质量分数高达 0.3 ~ 3 g/100g^[2]，本方法测定结果与此吻合，也与以往文献测定结果一致^[14-19]。但有的香料烟的烟叶茄尼醇质量分数只有 0.2 g/100g 左右。

文献^[19]采用 KOH 水溶液作为皂化碱，皂化难以完全且操作繁琐。本方法采用 NaOH 乙醇溶液作

为皂化碱,使皂化反应操作更简便,皂化效率高。

前处理采用超声波提取法对烟叶进行提取,方法便捷。称取烟膏样品前要将装有样品的容器置于超声波清洗仪中,超声3 min,将样品搅拌均匀,以保证样品的均匀性。

1.4.1(3)部分将提取液净化是因为:烟叶提取液中还含有诸多如烟碱、蛋白质、糖类、尼古丁、有机酸等水溶性成分,为了减少杂质对检测的干扰,需要加入蒸馏水对其进行净化。1.4.1(4)部分将皂化液净化是为了将皂化液洗至中性,保护色谱柱。

正己烷溶液加蒸馏水洗涤净化时,振荡不要太剧烈,以防止溶液皂化,同时要严格防止溶液漏出。振荡后要用离心机离心以利于分层,否则会严重影响检测结果的精密性。

1.4.1(3)稀释步骤,分取一定体积的正己烷溶液时,要用移液管取,严禁使用移液器,因为正己烷粘度为0.307 mPas(25℃),远小于水的粘度0.893 mPas(25℃),用移液器移取正己烷溶液易滑落,从而严重影响检测结果的精密性。

茄尼醇一部分以游离态形式、一部分以茄尼醇酯的形式存在于烟草中,所以测定总茄尼醇含量,必须经过皂化,把烟草中茄尼醇从结合态转化成游离态。由于皂化温度对皂化反应有一定影响,故皂化时应使用导热性较好的玻璃容器,避免使用导热性不好的容器如聚丙烯离心管等。皂化过程应将三角瓶置于恒温振荡器振荡,使结合态的茄尼醇能与皂化碱充分混合,使皂化更完全。

参考文献

- [1] Narosionha Rao C V, Chakraborty M K. Solanesol from tobacco waste [J]. Research and Industry, 1979, 24(2): 83-85.
- [2] 王非,郑珩,余永柱,等. 高纯度茄尼醇的现状与市场前景[J]. 现代化工, 2005, 25(8): 63-66.
- [3] 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.
- [4] 李军,李吉昌,吴晓华,等. 烟草废弃物利用研究[J]. 云南化工, 2010, 37(2): 44-49.
- [5] 黎新江,张彬,周武. 高纯度茄尼醇的分离及测定[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(26): 11389-11390.
- [6] 张晓仿,曹栋,邓国栋. 从废次烟草浸膏中提取茄尼醇的皂化试验[J]. 烟草科技, 2007(5): 50-52.
- [7] 顾正桂,刘玲,顾美娟,等. 采用分离集成技术提取废弃烟叶中精品茄尼醇[J]. 化学工程, 2010, 38(10): 136-140.
- [8] 许玉君,黎四芳,刘苗,等. 超声波辅助两相提取茄尼醇的研究[J]. 厦门大学学报:自然科学版, 2010, 49(5): 649-653.
- [9] 刘快之,李德亮,陈伯森,等. 库仑滴定法测定烟叶提取物中茄尼醇[J]. 化学研究, 1997, 8(3): 56-59.
- [10] Severson R F. Gas chromatographic method for the determination of free and total solanesol in tobacco[J]. J Chromatogr., 1977, 139: 269-282.
- [11] Keca M, Gross S, Malnar I, et al. Isolation of solanesol from tobacco (*Nicotiana tabacum* L) by classic extraction and ultrasound extraction [J]. Farmaceutski Glasnik, 1997, 53(6): 173-182.
- [12] Watson C, Mccraw J, Polzin G, et al. Development of a method to assess cigarette smoke intake [J]. Environ Sci Technol, 2004, 38: 248-253.
- [13] Tucker S P, Pretty J R. Identification of oxidation products of solanesol produced during air sampling for tobacco smoke by electrospray mass spectrometry and HPLC[J]. Analyst, 2005, 130(10): 1414-1424.
- [14] 缪建荣,罗丽娟,邵昌松,等. RP-HPLC 测定烟叶和烟叶提取物中茄尼醇的含量[J]. 中国现代中药, 2007, 9(8): 17-19.
- [15] 张明时,黄俊学. 高效液相色谱法测定烟叶提取物中茄尼醇的含量[J]. 色谱, 2001, 19(5): 470-471.
- [16] 徐济仓,杨式华,侯英,等. 反相液相色谱法测定烟叶提取物中的茄尼醇[J]. 云南大学学报:自然科学版, 2010, 32(S1): 8-10.
- [17] 白琦,勝間田五郎,陈修身,等. 测定茄尼醇的不确定度[J]. 中国现代应用药学杂志, 2009, 26(3): 240-242.
- [18] 黄翼飞,李峰,马青,等. 液相色谱-大气压化学电离离子阱质谱法测定烟草中的游离茄尼醇[J]. 分析试验室, 2009, 28(11): 84-87.
- [19] 童康琼,兰明蓉,赵云飞,等. 高效液相色谱法测定烟叶中的总茄尼醇[J]. 烟草化学, 2008, 248(3): 49-52.