

不同萃取条件对分光光度法测定烟草中尼古丁含量的影响

王 茜, 王 颀, 石 磊

(河北农业大学 食品科技学院 河北 保定 071001)

摘 要: 采用酸提取法将干燥的烟末中的尼古丁提取出, 研究了不同萃取条件对分光光度法测定烟草中尼古丁含量的影响, 总结出了分光光度法测定烟草中尼古丁的条件。此方法建立了快速简便、灵敏度高的测定烟草及制品中烟碱含量的萃取分光光度法。

关键词: 烟草; 尼古丁; 提取

中图分类号: S 572 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)01-0023-04

烟碱又名尼古丁(Nicotine), 是烟草及其制品中特有的生物碱, 其含量高低是烟草和香烟质量控制的一项重要指标, 烟碱分析方法的研究对于烟草生产过程中的质量控制具有重要意义。烟碱分析过程中尼古丁的提取方法主要有水蒸汽蒸馏法、溶剂萃取法和离子交换法, 超临界萃取技术也被应用于尼古丁的提取^[1-4]。测定烟草中尼古丁的方法有重量法、紫外分光光度法、薄层色谱法、毛细管气相色谱法、离子选择性电极法和示波极谱间接法^[5-8]。重量分析法的优点是不使用基准试剂和容量器皿, 分析结果准确、重现性好、不受外界条件干扰, 缺点是操作繁琐、耗时、不能区分尼古丁和其它植物碱, 当溶液中有铵等无机盐存在时沉淀不易生成, 不适用于低含量尼古丁的测定。分光光度法的优点是对于测定低含量的尼古丁准确度高、选择性好、检测速度快; 其缺点是可测量的浓度范围小, 对于高含量尼古丁的测定, 因受方法本身灵敏度、谱带宽度、波长选择性及共存植物碱的影响, 易造成测量结果的偏差; 且往往需要蒸馏或萃取等复杂的前处理, 较为费事, 还易受外界条件影响。滴定分析法仪器投资小, 操作简便, 测试时间短, 缺点是相对标准偏差较大, 由于共存生物碱的干扰, 往往结果比标准测量值高, 不适合对准确度要求较高样品的测量。色谱法的优点是分离效率高, 测定速度快, 分离与测量同步进行, 重现性好, 回收率高, 过程无污染。缺点是需用大型仪器和标准物, 不易普及, 测量范围较窄。电位法是目前最快的检测方法, 它适合大批量样品的快速测定, 且方法简便、选择性好、结果准确、测试过

程无污染。其缺点是: 电极制作的好坏直接影响测量结果, 对操作人员要求高, 不同试验条件下结果差异大, 需操作人员自身探索寻求最佳试验条件。极谱分析法测定灵敏度高, 分辨能力强, 具有良好的抗干扰能力, 所用仪器简单; 但需要对尼古丁进行蒸馏、络合、沉淀、分离等复杂的预处理, 容易给测量引入误差。尼古丁测定除了上述常用方法之外, 还有其它一些测定方法。如在 HCl 介质中, 使尼古丁与雷氏盐生成难溶化合物, 用原子发射光谱法间接测定了尼古丁; 用毛细管电泳法测定了烟制品中痕量的尼古丁; 以手性络合剂作为标记物, 用核磁共振法测定了烟草生物碱和类烟碱化合物。这些方法多具有简便、快速、样品需要量小的优点, 分别适用于对映体分析、药物性能检测及痕量组分分析, 但它们都需要大型分析仪器, 对测试人员要求素质高。

上述方法直接应用于烟碱测定分析均有一定难度, 现在急需找到一种更适合直接应用与生产, 简单、方便、快捷、准确的方法。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 样品采集与加工 烟叶样品于 2006 年 9 月 7 日采于河北容城县, 品种为异性烟串花。样品用毛刷除去灰尘后, 分别用自来水、蒸馏水及高纯水冲洗干净, 60℃ 恒温烘干, 研细混匀, 备用。

1.1.2 仪器设备与试剂 仪器设备: 721A 型分光光度计, HSD-2A 型酸度计。试剂: 标准烟碱液(日本进口浓度为 2.5 mg/mL), 甲基橙(浓度为 5.0 mg/mL), HAc-NaAc 缓冲溶液, 盐酸(浓度为 1 mol/L)其余试剂均为分析纯, 水为去离子水。

1.2 试验方法

甲基橙可与尼古丁形成黄色络合物, 在紫外光区有最大吸收波长, 用二氯甲烷将其从水相中萃取后直接进行分光光度测定。

1.2.1 样品液制备方法 准确称取 1 g 干燥的烟末于

第一作者简介: 王茜(1983-), 女, 硕士, 主要从事食品科学方面的研究工作。E-mail: wq221348@sina.com.

通讯作者: 王颀。E-mail: wj591010@163.com.

基金项目: 保定市科技局农产品加工平台建设资助项目(05N005)。

收稿日期: 2008-08-15

100 mL 锥形瓶中, 加入 30 mL 1 mol/L HCl 溶液, 在小火上煮沸 10min, 趁热抽滤, 再用热高纯水洗涤残留物 3 次, 滤液合并, 定容至 100 mL, 避光保存待用。

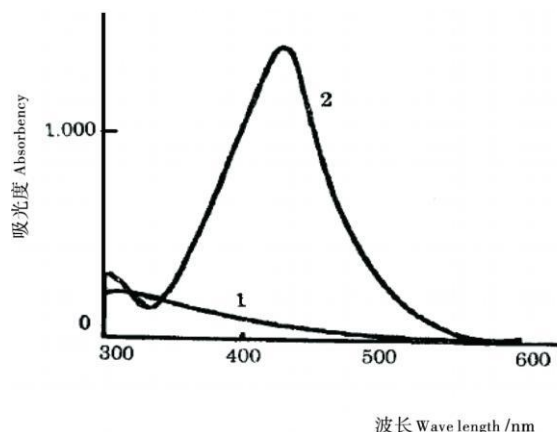


图 1 络合物和萃取剂的吸光值

Fig.1 Absorbency of substance of combining and extraction

注: 1. 为萃取剂的吸光值; 2. 为络合物的吸光值。

Note: 1 was the absorbency of extraction;

2 was the absorbency of Substance of Combining.

1.2.2 尼古丁吸收光谱曲线测定 准确移取 0.01 mL 标准烟碱液于干燥的 50 mL 分液漏斗中, 加入 1.00 mL pH 4.5 的 HAc-NaAc 缓冲溶液 0.6 mL 甲基橙溶液 再加入 6.40 mL 纯水使水相体积为 10.00 mL。加入

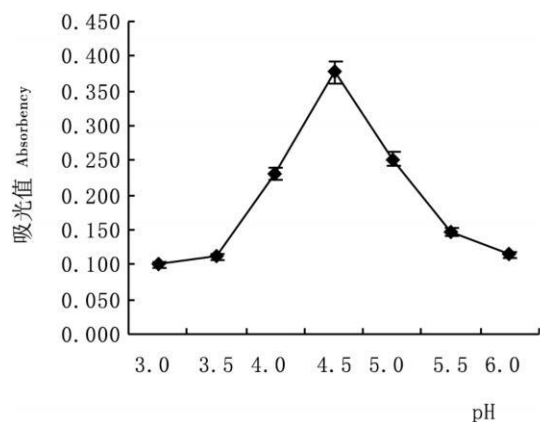


图 2 pH 对吸光值的影响

Fig.2 Effect of pH to absorbency

1.2.5 不同络合显色剂的用量对吸光值的影响 为了研究络合显色剂的用量对吸光值的影响, 设以下 9 个处理 分别移取 1.2.1 制备的样品溶液 2.00 mL 于 9 个干燥的 50 mL 分液漏斗中, 加入 1.00 mL pH 4.5 的 HAc-NaAc 缓冲溶液, 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9 mL 甲基橙溶液, 再加入一定量高纯水使水相体积为 10.00 mL。加入 5.00 mL 二氯甲烷, 振荡 2 min, 静置分

5.00 mL 二氯甲烷, 振荡 2 min, 静置分层, 取二氯甲烷层于 1 cm 比色皿中, 以试剂空白为参比, 用 721A 型分光光度计作全波长扫描, 确定二氯甲烷、甲基橙和尼古丁形成的黄色络合物的吸收峰波长。

1.2.3 不同 pH 对吸光值的影响 为了研究 pH 对吸光值的影响, 设以下 7 个处理, 分别移取 1.2.1 制备的样品溶液 2.00 mL 于 7 个干燥的 50 mL 分液漏斗中, 然后依次加入 pH 3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0 的 HAc-NaAc 缓冲溶液各 1.00 mL; 然后各处理均加入 0.6 mL 甲基橙溶液和 6.40 mL 高纯水使水相体积为 10.00 mL, 再加入 5.00 mL 二氯甲烷, 振荡 2 min, 静置分层。取二氯甲烷层于 1 cm 比色皿中, 以试剂空白为参比, 用 721A 型分光光度计于 425 nm 处测其吸光值, 重复 3 次, 试验结果用 $\bar{X} \pm SD$ 表示。

1.2.4 不同缓冲溶液用量对吸光值的影响 为了研究缓冲溶液用量对吸光值的影响, 设以下 9 个处理, 分别移取 1.2.1 制备的样品溶液 2.00 mL 于 9 个干燥的 50 mL 分液漏斗中, 加入 0.0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0 mL pH 4.5 的 HAc-NaAc 缓冲溶液 0.6 mL 甲基橙溶液 再加入一定量高纯水使水相体积为 10.00 mL。加入 5.00 mL 二氯甲烷, 振荡 2 min, 静置分层, 取二氯甲烷层在分光光度计上, 用 1 cm 比色皿, 以试剂空白为参比, 于 425 nm 处测其吸光值, 重复 3 次, 试验结果用 $\bar{X} \pm SD$ 表示。

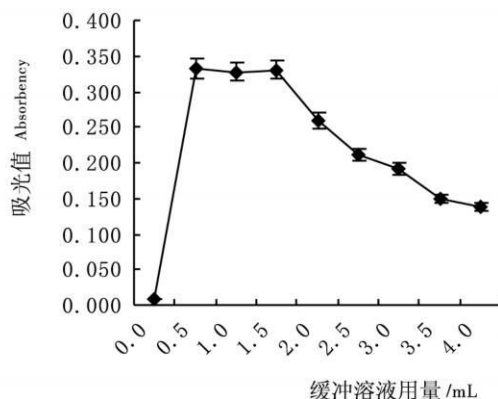


图 3 缓冲溶液用量对吸光值的影响

Fig.3 Effect of dosage of cushion liquor to absorbency

层, 取二氯甲烷层在分光光度计上, 用 1 cm 比色皿, 以试剂空白为参比, 于 425 nm 处测其吸光值, 重复 3 次, 试验结果用 $\bar{X} \pm SD$ 表示。

1.2.6 不同萃取剂对吸光值的影响 为了研究萃取剂对吸光值的影响, 设以下 8 个处理, 分别移取 1.2.1 制备的样品溶液 2.00 mL 于 8 个干燥的 50 mL 分液漏斗中, 加入 1.00 mL pH 4.5 的 HAc-NaAc 缓冲溶液, 0.6 mL

甲基橙溶液, 再加入 6.40 mL 高纯水使水相体积为 10.00 mL。分别加入 5.00 mL 乙醚、苯、甲苯、正己烷、二硫化碳、四氯化碳、三氯甲烷、二氯甲烷作萃取剂, 振荡 2 min, 静置分层, 选择效果最好的为试验用萃取剂。

1.2.7 不同振荡时间对吸光值的影响 为了研究振荡时间对吸光值的影响, 设以下 9 个处理, 分别移取 1.2.1 制备的样品溶液 2.00 mL 于 9 个干燥的 50 mL 分液漏斗中, 加入 1.00 mL pH 4.5 的 HAc-NaAc 缓冲溶液, 0.6 mL 甲基橙溶液, 再加入 6.40 mL 高纯水使水相体积为 10.00 mL。加入 5.00 mL 二氯甲烷 分别振荡 0.25、0.5、0.75、1、1.25、1.5、1.75、2、3.0 min, 静置分层, 取二氯甲烷层在分光光度计上, 用 1 cm 比色皿, 以试剂空白为参比, 于 425 nm 处测其吸光值, 重复 3 次, 试验结果用 $\bar{X} \pm SD$ 表示。

2 结果与分析

2.1 吸收光谱曲线扫描结果

甲基橙可与尼古丁形成黄色络合物, 用二氯甲烷将其从水相中萃取后可直接进行分光光度测定。

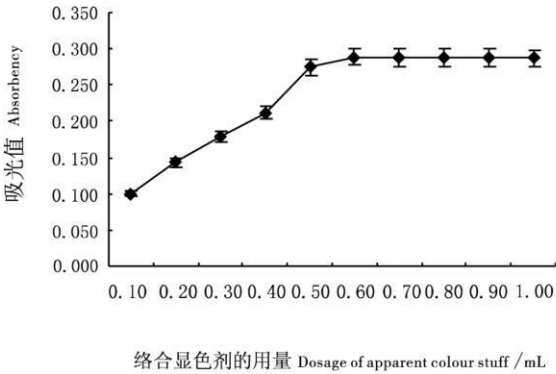


图 4 络合显色剂的用量对吸光值的影响

Fig. 4 Effect of dosage of apparent colour stuff to absorbency

2.4 络合显色剂用量对吸光值的影响

由图 4 可知, 烟碱与甲基橙形成的黄色络合物在当络合显色剂用量从 0.10 mL 逐渐升至 0.90 mL 时, 吸光度逐渐增大, 当用量达为 0.6 mL 时吸光值达到最大, 并且以后随着络合显色剂用量的增加吸光值保持不变。根据试验结果, 烟碱与甲基橙形成的黄色络合物吸光值在络合显色剂用量为 0.6 mL 时就达到最大, 故试验选用络合显色剂用量为 0.6 mL。

2.5 不同萃取剂对吸光值的影响

分别用乙醚、苯、甲苯、正己烷、二硫化碳、四氯化碳、三氯甲烷、二氯甲烷作萃取剂, 对烟碱-甲基橙络合物作萃取试验。结果发现只有三氯甲烷、二氯甲烷能将有色络合物萃取到有机相, 用二氯甲烷时乳化效果最小, 效果更好, 所以选用二氯甲烷作萃取剂。

图 1 为样品液的全波长扫描曲线。由图 1 可知, 烟碱与甲基橙形成的黄色络合物, 在 425 nm 处有最大吸收峰, 并且萃取剂在此区间内对络合物的影响很小, 可以忽略不计。最后选择在 425 nm 处测量甲基橙与尼古丁形成的黄色络合物的吸光值。

2.2 缓冲液 pH 对吸光值的影响

由图 2 可知, 当缓冲液 pH 从 3.0 逐渐升高到 6.0 时, 烟碱与甲基橙形成的黄色络合物的吸光值先增大后减小。在 pH 为 4.5 时, 吸光值最高, 即在 pH 为 4.5 时黄色络合物的提取率最高, 即吸光值最大。所以试验选用 pH 4.5 的 HAc-NaAc 缓冲溶液最为适宜。

2.3 缓冲溶液用量对吸光值的影响

由图 3 结果可知, 烟碱与甲基橙形成的黄色络合物在当缓冲溶液用量从 0.0 mL 升至 0.5~1.5 mL 时, 吸光度明显增大且能保持稳定。但随着缓冲溶液用量的逐渐增加, 吸光值反而逐步下降。根据试验结果, 吸光值在 0.5~1.5 mL 时最大, 选用缓冲溶液用量 1.0 mL 最为适宜。

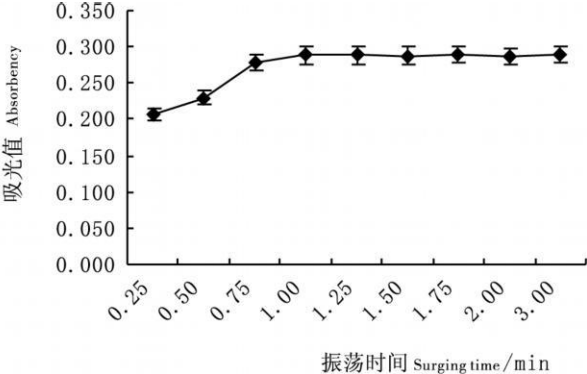


图 5 振荡时间吸光值的影响

Fig. 5 Effect of surging time to absorbency

2.6 不同振荡时间对吸光值的影响

由图 5 可知, 烟碱与甲基橙形成的黄色络合物在振荡时间从 0.25 min 延至 1.00 min 的过程中, 吸光值逐渐增大。但以后再增加振荡时间, 吸光值也不会发生明显改变。即振荡 1 min 以上即能定量地将烟碱-甲基橙黄色络合物萃入有机相, 吸光度达到稳定, 因此, 为充分萃取烟碱与甲基橙形成的黄色络合物, 试验选择振荡时间为 2 min。

2.7 产物在有机相中的稳定时间

烟碱-甲基橙络合物用二氯甲烷萃取后, 由于水相在上层, 二氯甲烷在下层, 避免了与空气接触, 这时产物可稳定至少 2 h 而保持吸光度不变。若将有机相置于空气中, 吸光值缓慢下降。

2.8 共存物质的影响

烟草试样中所含成分为 Ca、K、Mg、Na、Fe 等, 经该法处理后含量不变, 经过萃取后不干扰测定。如样品中这些元素含量超过烟碱 2 倍时, 其干扰可用加入一定量 EDTA 的办法消除。

3 问题讨论

在测定尼古丁的过程中, 经确定该方法对于测定低含量的尼古丁准确度高、选择性好、检测速度快, 并且克服了共存植物碱的影响, 把测量结果的偏差减到最小, 除去了复杂的前处理, 消除外界条件的影响和增加了有利于提高分析准确度的措施。该方法可靠、方便、运用范围广泛。

该试验证明, 利用酸性介质提取烟草中的尼古丁, 再用甲基橙与尼古丁形成可萃入二氯甲烷的络合物, 直接测定有机相的吸光度, 即可准确定量测得烟草中的尼古丁。该测试体系操作简便、快速, 结果准确, 适用于各种烟样中尼古丁含量的分析。但该方法的缺点是可测量的浓度范围小, 在高浓度的尼古丁条件下, 吸光度与尼古丁浓度不呈线性关系, 给测量带来一定难度, 希望通过继续的试验解决这一问题。

该试验由于使用了普及型 721 分光光度计进行测

定, 较为切合我国烟草行业的实际情况, 为烟草工、农业提供了一个合适可供选择的分析方法, 具有实际推广应用价值。

参考文献

- [1] 朱仁发. 超临界流体萃取技术及在烟草工业中的应用[J]. 安徽化工, 1999(2): 18-19.
- [2] 鲍成根. 夹带剂在烟草超临界萃取中的应用[J]. 安徽化工, 1999(2): 20.
- [3] 董超宇. 超临界 CO₂ 从烟草中提取天然烟碱[J]. 化学工程师, 1998(5): 51.
- [4] J Rincon. Preliminary Study on the Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Nicotine from Tobacco Wastes[J]. Separation Science and Technology, 1998, 33(3): 411.
- [5] 黎植昌. 萃取分光光度法快速测定烟草中的烟碱[J]. 分析化学, 1996, 14(1): 60-62.
- [6] Gottscho A M. Nicotine Analysis of Commercial Tobacco Products[J]. J Assoc. Off. Anal. Chem, 1998 71(6): 1110.
- [7] 松冈俊惠. 用离子缔合性试剂进行烟碱的吸光度测定[J]. 分析化学(日), 1992, 31(7): 377.
- [8] First G D. Gas Chromatographic Determination of Nicotine in Gases and Liquids with Suppression of Adsorption Effects[J]. Anal. Chem, 1990, 52: 1755.

Different Extract Conditions of Spectrophotometric Method to Influence the Content of Nicotine in Tobacco

WANG Qian, WANG Jie, SHI Lei

(College of Food Science and Technology, Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071001, China)

Abstract: Nicotine is extracted from tobacco which was in 100 mL taper bottle using the acid. The experiment studied the different extract conditions of the spectrophotometric method to influence the content of nicotine in tobacco. At the end, summary extract conditions of the spectrophotometric method to determine the content of nicotine in tobacco. The method showed good accuracy and reproducibility. Good results were obtained for the determination of nicotine in tobacco and tobacco products.

Key words: Tobacco; Nicotine; Extract

抓住节能日光温室休闲时间恢复地力

1 深翻晒垡

在前茬作物拉秧之后, 揭掉温室上的薄膜, 将土壤深翻 40 cm, 利用夏季高温晒垡。

2 灌大水, 压盐碱

对日光温室内的田块用大水漫灌, 灌后最好将水撤掉, 防止土壤盐渍化影响下茬蔬菜生长。

3 高温消毒土壤

前茬作物拉秧后利用夏季的高温对土壤进行消毒, 具

体做法是: 先将地耕翻, 然后做成小高畦。用旧薄膜铺在地面上盖严地表, 在畦沟中灌水, 并经常保持沟中有水, 同时将棚膜密闭 20 d, 使土温高达 40~50℃, 可有效地杀死病菌和虫卵。

4 提前施肥

在秋冬茬作物定植前 30~40 d, 将准备施用的有机肥的三分之二撒施在温室地表上, 然后深翻 30~40 cm, 利用夏秋之交较高的温度, 加速有机肥的分解。