



高效液相色谱法测定烟草中烟碱含量

罗琼 李青

(江苏中烟工业有限责任公司淮阴卷烟厂,江苏淮安 223002)

摘要 为了提高液相色谱在烟草行业的应用,建立了高效液相色谱法测定烟草中烟碱含量的分析方法。烟末样品经过 0.01 mol/L 的氢氧化钠溶液萃取,以等体积甲醇和 0.02 mol/L 磷酸盐缓冲溶液作流动相,在 259 nm 的波长下分析,用外标法定量。结果表明,烟碱含量在 0~350 mg/L 浓度范围内,线性关系良好, $R^2=0.999 1$,回收率为 95.7%~103.2%。该法具有快速、简单、准确、灵敏等特点,适用于样品的批量检测。

关键词 烟草;烟碱;高效液相色谱法

中图分类号 TS47 **文献标识码** A **文章编号** 1007-5739(2018)08-0242-01

Determination of Nicotine Content in Tobacco by High Performance Liquid Chromatography

LUO Qiong LI Qing

(Huaiyin Cigarette Factory, China Tobacco Jiangsu Industrial Co., Ltd., Huaian Jiangsu 223002)

Abstract In order to improve the application of high performance liquid chromatography(HPLC) in tobacco industry, a high performance liquid chromatography method was established to determine the content of nicotine in tobacco. The sample was extracted by 0.01 mol/L sodium hydroxide solution, and the equal volume of methanol and 0.02 mol/L phosphate buffer solution were used for the flow phase, the external standard was quantified at 259 nm wavelength. The results showed that the content of nicotine was in the range of 0~350 mg/L, the linear relationship was good, $R^2=0.999 1$, and the recovery rate was 95.7%~103.2%. The method is fast, simple, accurate, sensitive and so on, which is suitable for bulk detection of samples.

Key words tobacco; nicotine; high performance liquid chromatography(HPLC)

我国是烟草大国,每年烟草产量在 500 万 t 以上。烟草中含有多种生物碱,其中烟碱又名尼古丁(nicotine, NTC),含量最高,约占烟草生物碱总量的 95%。我国新的国家标准对卷烟及其烟气提出了较为严格的要求,增加了烟气中烟碱含量的考核项目,并要求使用气相色谱法测定总颗粒物中的烟碱。目前,烟草行业测定烟草中烟碱含量的方法主要有硅钨酸重量法^[1]、流动分析法^[2]、紫外分光光度法^[3-4]及气相色谱法^[5-6]。其中,用紫外分光光度法测定烟碱的前处理较为费时,不利于快速分析。硅钨酸重量法可得到较为准确的结果,但缺点一是分析时间过长(一次分析周期为 24~48 h);二是不能区分烟碱和降烟碱,测定结果是烟碱类植物碱的总和;三是当溶液中有铵盐等无机盐存在时,不易形成沉淀,干扰测定。气相色谱法具有快速、准确、灵敏的特点,但其易受到样品中物质沸点的限制。高效液相色谱法已广泛应用于各个行业,不仅试剂使用量少,灵敏度高,还可以批量检测,因而开发液相色谱法测定烟草中烟碱含量具有重要意义。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

烟草样品由江苏中烟工业有限责任公司淮阴卷烟厂提供。甲醇、0.01 mol/L 氢氧化钠溶液、0~350 mg/L 的五级烟碱工作溶液、磷酸盐缓冲溶液;试验用水均为超纯水。主要仪器:Agilent1200 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司);电子天平,精确至 0.1 mg(瑞士梅特勒-托利多公司);振荡器。

1.2 试验方法

1.2.1 试验准备与色谱条件。称取烟末 0.20 g,置于 50 mL PET 小瓶中,用定量加液器准确加入 50 mL 0.01 mol/L 氢氧化钠溶液,在振荡器上以 200 r/min 的速度振荡 30 min,静置后取清液过 0.45 μm 无机滤膜,滤液作分析备用,同时作为空白试剂对照。色谱条件:流动相为等体积甲醇和 0.02 mol/L

缓冲磷酸盐混合溶液,并添加硫酸铵,含量为 0.5%,pH 值为 6.8,以使烟碱的出峰时间较合适,同时硫酸铵的加入可以消除拖尾影响,检测波长为 259 nm,流速 0.5 mL/min,进样量 5.0 μL ,柱温 35 $^{\circ}\text{C}$ 。

1.2.2 线性关系分析。取 0~350 mg/L 的五级烟碱工作溶液按上述条件测定,标准品谱图见图 1,分析峰面积与烟碱浓度的线性关系。

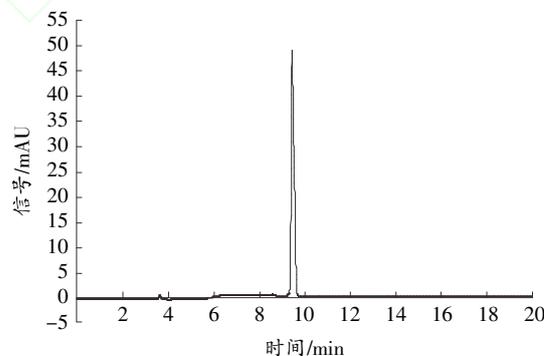


图 1 烟碱标准品 HPLC 图

1.2.3 提取溶剂的选择试验。精密称取烟末 0.20 g,分别选用甲醇、水、0.01 mol/L 氢氧化钠溶液提取 30 min,在选定的色谱条件下分析烟碱含量,以确定最佳提取溶剂。

1.2.4 精密度测定。取同一样品 5 份,按最佳处理方式与仪器条件,测定其烟碱含量。

1.2.5 回收率测定。精密称取已知烟碱含量的样品 6 份,加入低、中、高 3 个浓度梯度的标准溶液,各浓度重复 2 次,按照样品处理过程进行处理、测定。

2 结果与分析

2.1 线性关系

峰面积(Y)与烟碱浓度(X,mg/L)呈良好的线性关系,其线性回归方程为 $Y=0.526X-0.458$ ($R^2=0.999 1$)。

作者简介 罗琼(1975-),女,江苏涟水人,硕士,从事烟用材料及烟草化学成分分析工作。

收稿日期 2018-01-20

(下转第 246 页)

用 C₁₈ 或 ODS 色谱柱,选用甲醇、乙醇、乙腈和磷酸盐、乙酸盐为流动相作等度洗脱,检测分析采用紫外或二级阵列。为了达到快速分离的目的,选用 0.2 mol/L 乙酸铵溶液:乙腈=95:5 为洗脱流动相。

2.2.2 波长。在上述洗脱条件下,采用二级阵列检测器在 210~400 nm 范围内对苯甲酸、山梨酸和糖精钠的吸收波长进行扫描,苯甲酸、山梨酸和糖精钠的最大吸收波长分别为 223.8、254.3、208.8 nm,综合三者最大吸收波长,选择 230 nm 为检测波长。

2.3 线性关系及检出限

以 0.2 mg/mL 的混合标准工作液配制系列浓度,按照上述色谱条件进行分析测定,分别绘制浓度和吸光度的标准曲线。在试验条件下,色谱分析效果良好,满足分析要求,对照品分析图谱如图 1 所示,3 种组分线性关系良好,以信噪比为 3 倍时确定最低检出限,其结果见表 1。

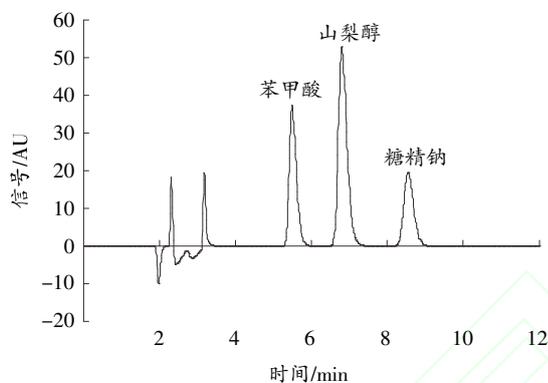


图 1 对照品图谱

表 1 线性关系及检出限

组分	线性范围 μg·mL ⁻¹	线性方程	相关系数 (r)	最低检出限 g·kg ⁻¹
苯甲酸	0.2~100.0	y=99 875.5x+8 026.23	0.999 9	0.005
山梨酸	0.2~100.0	y=174 655.0x-2 588.88	0.999 9	0.005
糖精钠	0.2~100.0	y=72 077.6x+1 776.63	0.999 9	0.005

2.4 精密度试验

取同一份待测样品(含有苯甲酸、山梨酸、糖精钠),重复测定 6 次,计算测量结果,测得苯甲酸、山梨酸、糖精钠的 RSD 值分别为 0.25%、0.18%、0.32%。由数据分析可知,该方

2.2 最佳提取溶剂的选择

甲醇提取的杂质峰较多,水提取率次于 0.01 mol/L 氢氧化钠,氢氧化钠效果最好。这是因为烟碱在碱性水溶液中呈游离态,增加了烟碱的溶解度,但存在色谱峰拖尾现象,可通过加入少量硫酸铵得到解决。

2.3 精密度

精密度检测结果 RSD 为 3.73%,精密度良好。

2.4 回收率

烟碱的加标回收率为 95.7%~103.2%,表明分析方法准确度高、可靠性强,可以满足分析要求。

3 结论

本文建立了高效液相色谱法测定烟草中烟碱含量,其

法的精密度良好。

2.5 稳定性试验

取 5.0 μg/mL 的混合标准液按上述方法分别于 0、4、8、12、16、20 h 时进行测定,苯甲酸、山梨酸、糖精钠的 RSD 值分别为 1.25%、0.89%、0.55%,由数据分析可知,在 20 h 内,待检测样品的稳定性良好。

2.6 加标回收率试验

称取空白样品 18 份,分成 3 组,分别加入的对照品浓度为 5、20、150 μg/mL,做加标回收,计算出回收率在 96%~99%之间,回收效果良好。

2.7 样品检测结果

分别称取预处理甘草桃肉和青口梅蜜饯各 2 份,每份 2.000 g,按提取方法进行提取后上机检测,结果如表 2 所示,检测结果符合产品生产要求。

表 2 样品检测结果

样品	苯甲酸	山梨酸	糖精钠 (g·kg ⁻¹)
甘草桃肉	0.173	0.330	0.239 0
青口梅蜜饯	0.230	0.117	0.067 6

3 结论

本试验建立了一种快速、简单、准确、灵敏度高的超高效液相色谱法检测蜜饯中苯甲酸、山梨酸和糖精钠的方法。该方法通过测定实际样品及加标回收,得出回收率符合检测方法要求,说明适用性强且范围广,便于进行日常检测。

4 参考文献

- [1] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会.食品安全国家标准 食品添加剂使用标准:GB 2760-2014[S].北京:中国标准出版社,2014.
- [2] 张根生.食品中有害化学物质的危害与检测[M].北京:中国计量出版社,2006.
- [3] 黄京平,李熠,周金慧,等.超高效液相色谱测定蜂蜜及其制品中的苯甲酸、山梨酸[J].食品科学,2010,31(20):417-420.
- [4] 国家卫生和计划生育委员会,国家食品药品监督管理总局.食品安全国家标准 食品中苯甲酸、山梨酸和糖精钠的测定:GB 5009.28-2016[S].北京:中国标准出版社,2016.
- [5] 陆雪梅.HPLC 法同时测定蜜饯中苯甲酸、山梨酸和糖精钠含量研究[J].安徽农学通报,2011,17(17):176-177.
- [6] 李惠彬.反相高效液相色谱法同时测定 9 种食品中乙酰磺胺酸钾、苯甲酸、山梨酸、糖精钠方法的研究[J].中国卫生检验杂志,2007,17(7):1173-1175.
- [7] 袁文新.超高效液相色谱法测定烘焙类食品中安赛蜜、糖精钠、苯甲酸、山梨酸和脱氢乙酸[J].卫生研究,2015,44(4):681-683.

准确度与精密度符合分析要求,色谱峰分离效果好,重现性较佳,操作简便快捷,可用于烟草样品中烟碱的测定,具有广泛的运用价值。

4 参考文献

- [1] 国家烟草专卖局.烟草及烟草制品烟碱纯度的测定硅钨酸重量法:YC/T 247-2008[S].北京:中国标准出版社,2008.
- [2] 国家烟草专卖局.烟草及烟草制品 总植物碱的测定 连续流动(硫酸钾)法:YC/T 468-2013[S].北京:中国标准出版社,2013.
- [3] GASTELLÚ C E, BUONORA D L, BENISE T A. Simple UV Spectrophotometric Method for Nicotine in Smoke[J]. Applied Spectroscopy, 1988, 42(6):1131-1132.
- [4] 殷全玉,杨铁钊,郭宝银,等.紫外分光光度法测定烟草中的游离烟碱[J].中国烟草科学,2008,29(6):20-22.
- [5] 国家烟草专卖局.烟草及烟草制品烟碱的测定气相色谱法:YC/T 246-2008[S].北京:中国标准出版社,2008.
- [6] 廖坤,彭春鸣.气相色谱法测定烟草中的烟碱含量[J].烟草科技,2003,50(3):105-112.