



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102353739 B

(45) 授权公告日 2013. 05. 15

(21) 申请号 201110256317. 8

(22) 申请日 2011. 09. 01

(73) 专利权人 湖北中烟工业有限责任公司

地址 430040 湖北省武汉市东西湖区金山大道 1355 号

专利权人 武汉市黄鹤楼科技园有限公司

(72) 发明人 喻世涛 黄龙 程书锋 朱巍

(74) 专利代理机构 武汉开元知识产权代理有限公司 42104

代理人 马辉

(51) Int. Cl.

G01N 30/06 (2006. 01)

G01N 30/74 (2006. 01)

(56) 对比文件

CN 102095816 A, 2011. 06. 15, 全文.

CN 101949903 A, 2011. 01. 19, 全文.

CN 102004132 A, 2011. 04. 06, 全文.

CN 102095816 A, 2011. 06. 15, 全文.

CN 102156178 A, 2011. 08. 17, 全文.

KR 20100100154 A, 2010. 09. 15, 全文.

US 6472222 B2, 2002. 10. 29, 全文.

DE 19809829 A1, 1999. 09. 02, 全文.

DE 4405553 A1, 1995. 08. 17, 全文.

陈燕舞, 肖 坤, 尹笃林, 廉世勋. 高效液相色谱法同时测定烟叶内的烟碱和多酚. 《顺德职业技术学院学报》. 2006, 第 4 卷 (第 1 期), 27-30.

审查员 陈永晖

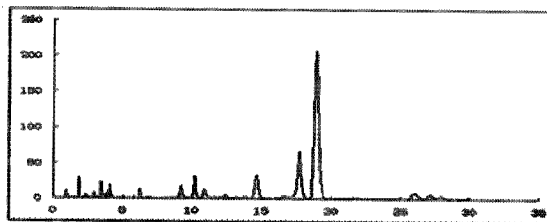
权利要求书1页 说明书3页 附图1页

(54) 发明名称

一种烟草中烟碱的快速检测方法

(57) 摘要

本发明公开了一种烟草中烟碱的快速检测方法,其主要步骤为:先进行样品前处理,制得试样;再加入乙醇去离子水溶液,离心静置,并定容,过滤配制成供试品溶液和烟碱对照品溶液;随后对供试品溶液和对照品溶液进行高效液相色谱测定,并进行氮发光检测器检测,以检测到的结果进行回归分析,得到供试品溶液中的烟碱的浓度,进而计算得到烟草中烟碱的含量。本发明的测定方法,采用高效液相色谱和氮化学发光检测相结合,氮化学发光检测对氮检测的选择性较强,提高了反应的专属性,抗干扰性强,准确性高,本发明的测定方法灵敏度高、重复性好及检测范围广,平均回收率为 97%;而且本发明的方法操作简单、快捷,自动化程度高,易于推广应用。



CN 102353739 B

1. 一种烟草中烟碱的快速检测方法,包括如下步骤:

a、样品前处理:准确称取烟草,放入烘箱中烘干;烘干后进行研磨,制得试样;

b、样品溶液配制:将一定量的试样装入提取罐中,同时加入乙醇去离子水溶液,并混合均匀;提取液离心后,将滤液静置,并定容,过滤,作为供试品溶液;称取一定量烟碱对照品,加相同类型溶剂溶解,并稀释至容量瓶刻度,摇匀,即为烟碱对照品溶液;

c、高效液相色谱测定:以氦发光检测器作为高效液相色谱的检测器,以三氟乙酸水溶液和三氟乙酸的甲醇溶液为流动相分别对步骤 b 中的供试品溶液、对照品溶液进行高效液相色谱测定,其色谱条件为 C18 色谱柱,流动相 A 为水:TFA=100:0.1,流动相 B 为甲醇:TFA=100:0.1;或流动相 A 为水:TFA=100:1.0,流动相 B 为甲醇:TFA=100:1.5;或流动相 A 为水:TFA=100:2.0,流动相 B 为甲醇:TFA=100:2.5;梯度洗脱,0~35min A 相从 95% 线性改变至 5%,以检测到的对照品烟碱色谱峰面积对其相应浓度进行回归分析,得到标准曲线及其回归方程;然后以相同方法对步骤 b 中的供试品溶液进行测定,将供试品色谱峰面积带入标准曲线的回归方程中得到供试品溶液中的烟碱的浓度,从而计算得到烟草中烟碱的含量。

2. 根据权利要求 1 所述的烟草中烟碱的快速检测方法,其特征在于:所述步骤 a 中烘箱的温度为 30℃-40℃。

3. 根据权利要求 1 所述的烟草中烟碱的快速检测方法,其特征在于:所述步骤 b 中的乙醇去离子水溶液为试样的 3-12 倍重量,浓度为 $\leq 80\%$ 。

4. 根据权利要求 1 所述的烟草中烟碱的快速检测方法,其特征在于:所述步骤 b 中过滤的滤膜直径为 0.45 μm 。

5. 根据权利要求 1 所述的烟草中烟碱的快速检测方法,其特征在于:所述步骤 c 中高效液相色谱条件为:SunFireC18 色谱柱,流速 0.2-0.4mL/min;柱温,22-35℃;氦发光检测器检测条件为:波长为 250-265nm,燃烧温度为 1000-1300℃,氦气流速为 1.0-2.5mL/min,氧气流速为 4-8mL/min。

一种烟草中烟碱的快速检测方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种检测方法,具体涉及利用高效液相色谱-氮化学发光检测器(HPLC-CLND)的一种烟草中烟碱的快速检测方法。

背景技术

[0002] 烟碱是烟草中特有的一种生物碱,占烟草中全部生物碱含量的92%以上,与烟草内在化学成分的协调性和吸食品质有着密切的关系。同时也是烟草和卷烟质量控制环节中的一项重要指标。目前,烟叶中烟碱含量的测定方法主要有质量分析法、紫外分光光度法、滴定法、旋光法、红外光谱法、原子吸收分光光度法、色谱分析法、电位分析法、极谱分析法等。这些方法在灵敏度、准确度、专属性、操作方便程度方面均存在着一定的不足;而目前较为流行的色谱法因其常连接的紫外可见光检测器只对紫外可见光区有吸收的化合物有响应,而且灵敏度与物质分子结构有关,且定量时需要对照品,但很多含氮化合物在此波长范围内无吸收或吸收较弱。虽然有些分析方法先将样品衍生,但前处理耗时,而且很可能有副反应,准确度难以保证,也无法知道样品中至少含有多少种含氮化合物。总氮含量是评价烟叶质量的重要指标,烟叶中的总氮量和其中的各种氮化合物含量之间有着密切的相关性,故测定总氮量对了解氮化合物的特性具有一定的作用。现在应用较多且较为经典的总氮测定法为凯氏定氮法,该法步骤繁琐,操作过程中稍有不慎易导致结果偏差。

[0003] 氮化学发光检测器是一种氮选择性较强的检测器,对氮化合物等摩尔线性响应。其检测原理是:使用不锈钢燃烧器使含氮化合物在高温下燃烧生成NO,一氧化氮进一步与臭氧反应生成激发态的二氧化氮。当激发态二氧化氮回到基态时在红区和红外区发光,光电倍增管检测到的发射光强与样品中氮的含量成正比。因为反应的专属性,故可以分析复杂的样品基质,而没有或只有很小的干扰,对氮化合物等摩尔的线性响应。除检测有机氮化合物外,氮化学发光检测法还可以用来检测氨、肼、氰化氢和NO_x等无机氮化合物。利用液相色谱和氮发光检测器联用技术用于检测烟草中烟碱的含量,目前还未见报道。

发明内容

[0004] 本发明的目的就是针对现有方法的步骤繁琐,易导致结果偏差等不足,提供利用高效液相色谱-氮化学发光检测器的一种烟草中烟碱的快速检测方法,该法与其它检测方法相比,不仅简单快速,而且检测结果准确度高。

[0005] 为了实现以上目的,本发明所采用的技术方案是:一种烟草中烟碱的快速检测方法,包括如下步骤:

[0006] a、样品前处理:准确称取烟草,放入烘箱中烘干;烘干后进行研磨,制得试样;

[0007] b、样品溶液配制:将一定量的试样装入提取罐中,同时加入乙醇去离子水溶液,并混合均匀;提取液离心后,将滤液静置,并定容,过滤,作为供试品溶液;称取一定量烟碱对照品,加相同类型溶剂溶解,并稀释至容量瓶刻度,摇匀,即为烟碱对照品溶液;

[0008] c、高效液相色谱测定:高效液相色谱的检测器为氮发光检测器,以三氟乙酸水

溶液和三氟乙酸的甲醇溶液为流动相分别对步骤 b 中的供试品溶液、对照品溶液进行高效液相色谱测定,其色谱条件为 C18 色谱柱,流动相 A 为水:TFA=100:0.1,流动相 B 为甲醇:TFA=100:0.1;或流动相 A 为水:TFA=100:1.0,流动相 B 为甲醇:TFA=100:1.5;或流动相 A 为水:TFA=100:2.0,流动相 B 为甲醇:TFA=100:2.5;梯度洗脱,0~35min A 相从 95% 线性改变至 5%,以检测到的对照品烟碱色谱峰面积对其相应浓度进行回归分析,得到标准曲线及其回归方程;然后以相同方法对步骤 b 中的供试品溶液进行测定,将供试品色谱峰面积带入标准曲线的回归方程中得到供试品溶液中的烟碱的浓度,从而计算得到烟草中烟碱的含量。

[0009] 所述步骤 a 中烘箱的温度为 30℃-40℃。

[0010] 所述步骤 b 中的乙醇去离子水溶液为 3-12 倍重量,浓度为 ≤ 80%,优选浓度为 30%-75%。

[0011] 所述步骤 b 中过滤的滤膜直径为 0.45 μm。

[0012] 所述步骤 c 中高效液相色谱条件为:SunFireC18 色谱柱(50mm×2.1mm,2.5 μm)流速 0.2-0.4mL/min;柱温,22-35℃;氮发光检测器检测条件为:波长为 250-265nm,燃烧温度为 1000-1300℃,氩气流速为 1.0-2.5mL/min,氧气流速为 4-8mL/min。

[0013] 本发明的烟草中烟碱含量的测定方法,采用氮化学发光检测器来检测。因为反应的专属性,故可以分析复杂的样品基质,而没有或只有很小的干扰,对氮化合物等摩尔的线性响应。提高了测定的准确性,使本发明的测定方法具有灵敏度高、重复性好及检测范围广的优点,平均回收率为 97%,而且本法的方法操作简单、快捷,自动化程度高,易于推广应用。

[0014] 另外,本发明的烟草中烟碱含量的测定方法,针对烟草或烟草制品的特点,对前处理及高效液相色谱的条件进行了优化,降低了杂质对烟碱的影响,进一步的提高了测定的准确性。

附图说明

[0015] 图 1:本发明供试品色谱图;

[0016] 图 2:本发明烟碱对照品色谱图;

[0017] 图 3:本发明空白溶剂(水)色谱图。

具体实施方式

[0018] 以下结合实施例对本发明做进一步描述:

[0019] 实施例 1:

[0020] 一、仪器与试剂

[0021] 高效液相色谱;SunFireC18 色谱柱(50mm×2.1mm,2.5 μm);氮发光检测器

[0022] 1) 样品前处理:

[0023] 用软毛刷清除烟叶样品上的细土和砂粒,将烟叶剪成片状或切成丝状。将处理好的烟叶放入烘箱,在 30℃的烘箱中烘干,直至可用手指捻碎。从烘箱中取出烘干好的样品,马上进行研磨,随即装入密封袋保存,此即为制备好的试样。

[0024] 2) 准备标准工作溶液:

[0025] 按照我国烟草行业标准(YC/T31-1996)测定试样的含水率。将一定量的试样装入

提取罐中,同时加入试样的3倍重量的浓度为75%的乙醇去离子水溶液,并混合均匀。提取液离心后,将滤液置于一定容积的量瓶中,并用提取溶剂定容,进样前经 $0.45\mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液。称取一定量烟碱对照品,加入相同的乙醇去离子水溶液溶解,并稀释至容量瓶刻度,摇匀,即为烟碱对照品溶液。

[0026] 3) 高效液相色谱测定:

[0027] 利用 HPLC-CLND 对烟碱进行检测,分析条件:SunFireC18 色谱柱($50\text{mm}\times 2.1\text{mm}$, $2.5\mu\text{m}$);流动相(A)水:TFA=100:0.1,(B)甲醇:TFA=100:0.1;梯度洗脱,0~35min A相从95%线性改变至5%,流速 $0.2\text{mL}/\text{min}$;柱温 22°C ;进样体积 $10\mu\text{L}$ 。氮发光检测器测定:检测波长为 250nm ,燃烧温度为 1000°C ,氩气流速为 $1.0\text{mL}/\text{min}$,氧气流速为 $6.0\text{mL}/\text{min}$,检测数据自动采集。

[0028] 取对照品溶液进样绘制标准曲线,计算回归方程 $Y=218.774X+1.972$, $r=0.9998$ 。精密度试验 RSD 为 2.1%、稳定性试验 8h 内稳定性良好、重复性试验 RSD 为 3.4%,回收率试验平均回收率为 96.7%;RSD 为 3.8%。取供试品溶液分别进样检测,带入回归方程,计算样品中烟碱含量为 1.83%,行业标准检测方法气相色谱-质谱分析法的检测结果为 1.84%,两者 RSD 为 2.7%。

[0029] 实施例 2:

[0030] 本实施例的测定方法与实施例 1 基本相同,区别在于:烘箱烘干温度是 38°C ,加入的乙醇去离子水溶液是试样的 8 倍重量,浓度是 30%,利用 HPLC-CLND 对烟碱进行检测,分析条件:SunFireC18 色谱柱($50\text{mm}\times 2.1\text{mm}$, $2.5\mu\text{m}$);流动相(A)水:TFA=100:1.0,(B)甲醇:TFA=100:1.5;梯度洗脱,0~35min A相从95%线性改变至5%,流速 $0.3\text{mL}/\text{min}$;柱温 28°C ;进样体积 $10\mu\text{L}$;氮发光检测器检测条件:检测波长为 255nm ,燃烧温度为 1150°C ,氩气流速为 $2.0\text{mL}/\text{min}$,氧气流速为 $4.0\text{mL}/\text{min}$,检测数据自动采集。取对照品溶液进样绘制标准曲线,计算回归方程 $Y=16.258X+1.5017$, $r=0.9997$ 。精密度试验 RSD 为 4.7%、稳定性试验 8h 内稳定性良好、重复性试验 RSD 为 4.1%,回收率试验平均回收率为 95.3%;RSD 为 5.0%。取供试品溶液分别进样检测,带入回归方程,计算样品中烟碱含量为 1.87%,行业标准检测方法气相色谱-质谱分析法的检测结果为 1.84%,两者 RSD 为 3.4%。

[0031] 实施例 3:本实施例的测定方法与实施例 1 基本相同,区别在于:烘箱的烘干温度是 40°C ,加入的乙醇去离子水溶液是试样的 12 倍重量,浓度是 80%。SunFireC18 色谱柱($50\text{mm}\times 2.1\text{mm}$, $2.5\mu\text{m}$);流动相(A)水:TFA=100:2.0,(B)甲醇:TFA=100:2.5;梯度洗脱,0~35min A相从95%线性改变至5%,流速 $0.4\text{mL}/\text{min}$;柱温 35°C ;进样体积 $10\mu\text{L}$;氮发光检测器检测条件:检测波长为 265nm ,燃烧温度为 1300°C ,氩气流速为 $2.5\text{mL}/\text{min}$,氧气流速为 $8.0\text{mL}/\text{min}$,检测数据自动采集。取对照品溶液进样绘制标准曲线,计算回归方程 $Y=95.569X+9.715$, $r=0.9995$ 。精密度试验 RSD 为 3.6%、稳定性试验 8h 内稳定性良好、重复性试验 RSD 为 3.3%,回收率试验平均回收率为 97.1%;RSD 为 4.0%。取供试品溶液分别进样检测,带入回归方程,计算样品中烟碱含量为 1.80%,行业标准检测方法气相色谱-质谱分析法的检测结果为 1.83%,两者 RSD 为 3.3%。

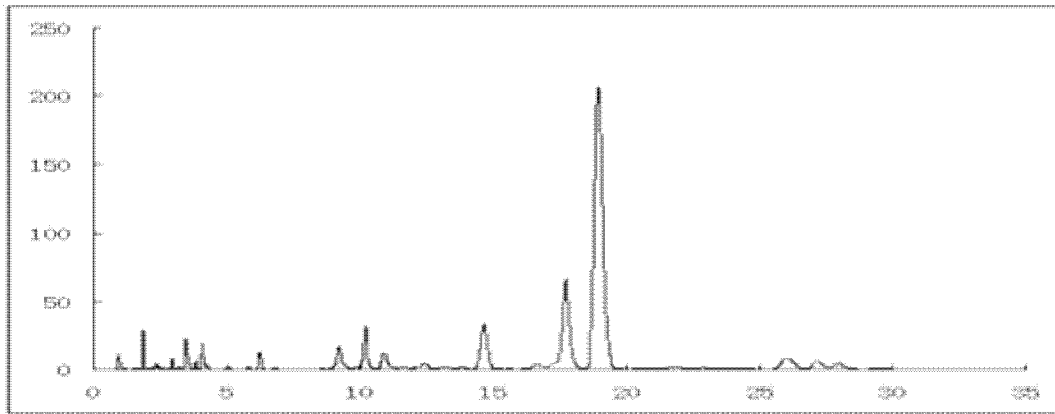


图 1

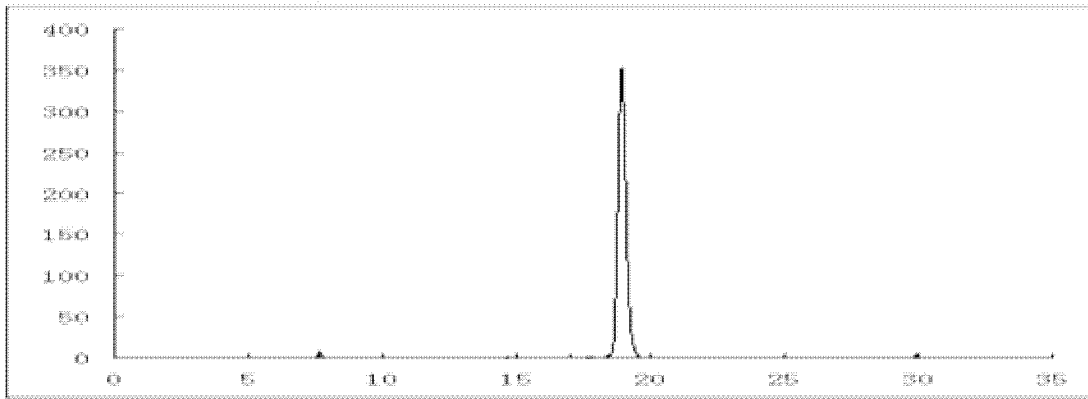


图 2

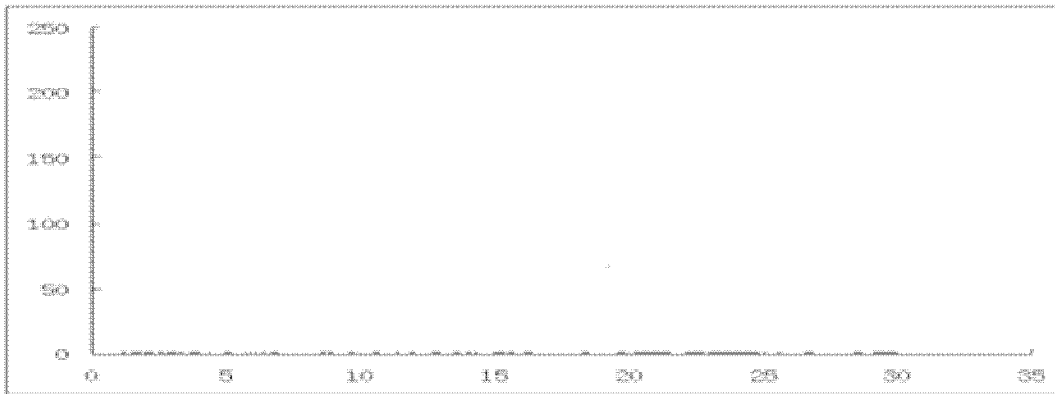


图 3