



引用格式:余晶晶,蔡君兰,王冰,等. 手性色谱柱-HPLC-DAD法分离分析烟草与烟草制品中烟碱旋光异构体[J]. 轻工学报,2018,33(5):44-52.

中图分类号:TS41⁺1 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2018.05.006

文章编号:2096-1553(2018)05-0044-09

手性色谱柱-HPLC-DAD法 分离分析烟草与烟草制品中烟碱旋光异构体

Separation and analysis of nicotine enantiomers in tobacco and tobacco products using chiral column-HPLC-DAD method

余晶晶,蔡君兰,王冰,秦亚琼,赵晓东,刘克建,薛聪,
张晓兵,刘绍锋

YU Jingjing, CAI Junlan, WANG Bing, QIN Yaqiong, ZHAO Xiaodong, LIU Kejian,
XUE Cong, ZHANG Xiaobing, LIU Shaofeng

中国烟草总公司 郑州烟草研究院,河南 郑州 450001

Zhengzhou Tobacco Research Institute, China National Tobacco Corporation, Zhengzhou 450001,
China

摘要:选用大赛璐手性色谱柱 CHIRALPAK-IC,以 $V(\text{正己烷}) : V(\text{异丙醇}) = 95 : 5$ 的混合溶液为流动相,以二乙胺为流动相添加剂,在正相色谱模式下,建立了手性色谱柱-高效液相色谱-二极管阵列检测器法(HPLC-DAD)分离分析烟草与烟草制品中烟碱旋光异构体.对该方法的表征和检验结果表明:1)左旋烟碱和右旋烟碱分别在 $15 \sim 750 \mu\text{g/mL}$, $0.75 \sim 30.00 \mu\text{g/mL}$ 质量浓度范围内线性关系良好,二者检出限和定量限分别为 0.02 mg/g 和 0.05 mg/g ;2)烟碱的日内、日间测定结果的精密度分别小于等于 0.85% , 4.00% ;左旋烟碱和右旋烟碱的回收率分别为 $94.93\% \sim 103.70\%$, $92.50\% \sim 117.50\%$.这表明本方法精密度较好,回收率较高.使用该方法对26个不同类型烟草及烟草制品的烟碱旋光异构体进行测定发现,烟草中主要为左旋烟碱,仅6个样品中检出右旋烟碱,且右旋烟碱质量占总烟碱比例为 $0.18\% \sim 0.70\%$;10个成品卷烟烟丝及其主流烟气中,右旋烟碱质量占总烟碱的比例明显高于卷烟烟丝.

关键词:

烟草;烟草制品;手性
色谱柱;HPLC-DAD;
烟碱旋光异构体

Key words:

tobacco; tobacco
product; chiral column;
HPLC-DAD;
nicotine enantiomers

收稿日期:2018-01-04

基金项目:中国烟草总公司2016年度重点项目(110201603006);郑州烟草研究院院长科技发展项目(312017CA0110)

作者简介:余晶晶(1982—),女,湖北省黄冈市人,郑州烟草研究院副研究员,博士,主要研究方向为卷烟烟气有害成分分析及新型烟草制品.

通信作者:刘绍锋(1979—),男,福建省永安市人,郑州烟草研究院高级工程师,主要研究方向为烟草化学.

Abstract: The CHIRALPAK-IC was used, and the mixed solution of $V(n\text{-hexane}) : V(\text{isopropanol}) = 95 : 5$ was used as the mobile phase, and diethylamine was used as the mobile phase additive. In normal phase chromatography mode, a chiral column-high performance liquid chromatography-diode array detector (HPLC-DAD) method was developed for the separation and analysis of nicotine optical isomers in tobacco and tobacco products. The characterization and test results of this method indicated: 1) The linear relationship between S-(-)-nicotine and R-(+)-nicotine was in the range of 15 ~ 750 $\mu\text{g/mL}$ and 0.75 ~ 30.00 $\mu\text{g/mL}$, respectively. The detection limit and limit of quantification were 0.02 mg/g and 0.05 mg/g, respectively. 2) The precision of intra- and inter-day measurements of nicotine was less than 0.85% and 4.00%, respectively; the recovery rates of S-(-)-nicotine and R-(+)-nicotine were 94.93% ~ 103.70% and 92.50% ~ 117.50%, respectively. This indicated that the method had good precision and high recovery rate. Using this method to determine the nicotine optical isomers of 26 different types of tobacco and tobacco products, it was found that tobacco was mainly S-(-)-nicotine, only 6 samples were detected by R-(+)-nicotine. The proportion of nicotine quality was 0.18% ~ 0.70%; among the 10 finished cigarettes and their mainstream smoke, the proportion of R-(+)-nicotine in total cigarette smoke was higher than that of cigarette tobacco.

0 引言

烟碱是烟草中含氮生物碱的主要成分,对中枢神经系统、周边神经系统有刺激作用,具有成瘾性,是人类吸烟的主要动力^[1]. 烟碱的分子中含有一个不对称碳原子,因此有两个旋光异构体,即左旋烟碱(S-(-)-烟碱)和右旋烟碱(R-(+)-烟碱). 天然烟草中的烟碱主要是左旋体,卷烟烟气中的右旋烟碱质量占总烟碱比例比烟草中略高,约为3.0%^[2-3]. 烟碱的左旋体和右旋体具有完全不同的代谢机理和生理特性,左旋烟碱的生理活性和毒性比右旋烟碱更强^[4]. 因此,烟碱旋光异构体的分离分析在吸烟与健康研究中具有重要意义.

烟碱旋光异构体的分离分析方法主要有气相色谱法(GC)、气相色谱-质谱联用法(GC-MS)^[2-3,5-6]、高效液相色谱-二极管阵列检测器法(HPLC-DAD)^[7-8]、毛细管电泳法^[9]、核磁共振法(NMR)^[10-11]、电子圆二色谱法^[12]、超合相色谱法^[13]等. 其中,毛细管电泳法, NMR, 电子圆二色谱法, 超合相色谱法的分离度和灵敏度较高,但所需仪器不够普

及. 采用手性气相色谱柱,结合 GC 和 GC-MS 法可实现烟碱旋光异构体的分离分析,然而手性拆分所需时间较长. 例如, P. Clayton 等^[2]采用手性色谱柱-GC-MS 法分离了烟碱旋光异构体,对 S-(-)-烟碱的裂解行为进行了研究,所需的分析时间约为 75 min,且烟碱旋光异构体并未实现基线分离. 与 GC, GC-MS 法相比, HPLC 法分析烟碱旋光异构体同样需使用手性色谱柱,且所需分析时间短、分离度高. 例如, Y. Tang 等^[7]采用衍生化的纤维素手性固定相-正相色谱柱-HPLC 法实现了烟碱和降烟碱旋光异构体的基线分离,分析时间约为 35 min. 因此, HPLC 法更适合烟碱旋光异构体的拆分. 本文拟建立烟草和烟草制品中烟碱旋光异构体的手性色谱柱-HPLC-DAD 分析方法,对不同类型烟叶和卷烟烟丝中烟碱旋光异构体进行测定,并考察卷烟烟丝和主流烟气中烟碱旋光异构体的比例关系,以加深业界对于吸烟与健康之关系的研究.

1 材料与amp;方法

1.1 试剂与amp;仪器

标准品: 烟碱外消旋体(纯度 > 98%), 加

拿大 TCR 公司产;水为 GB/T 6682—2008 规定的一级水;CH₂Cl₂, 甲基叔丁基醚, 正己烷均为色谱纯, 美国 J. T Baker 公司产; NaOH, 无水 Na₂SO₄, 均为分析纯, 国药集团化学试剂公司产.

仪器: Agilent 1290 高效液相色谱仪, 美国 Agilent 公司产; Cerulean SM450 直线式吸烟机, 英国 Cerulean 公司产; Milli-Q50 超纯水仪, 美国 Millipore 公司产; KQ-700DE 型数控超声波清洗器, 江苏省昆山市超声仪器有限公司产; CP2245 电子天平(感量 0.000 1 g), 德国 Sartorius 公司产.

1.2 标准溶液的配制和标准曲线的绘制

准确称取 30.0 mg 烟碱外消旋体(精确到 0.1 mg), 置于 10 mL 的棕色容量瓶中, 用正己烷稀释定容至刻度. 烟碱外消旋体储备液中左旋烟碱和右旋烟碱质量浓度均为 1.5 mg/mL. 首先分别移取 5 mL, 1 mL 烟碱外消旋体储备液于不同的 10 mL 棕色容量瓶中, 用正己烷稀释至刻度, 配制两个标准溶液, 分别标示为标准溶液 B₁, B₂; 再分别移取 5 mL, 2 mL, 1 mL, 500 μL, 100 μL, 50 μL 的标准溶液 B₁ 于不同的 50 mL 棕色容量瓶中, 用正己烷稀释定容至刻度, 得到 6 个标准溶液, 分别标示为 B₃, B₄, B₅, B₆, B₇, B₈. 采用 B₁—B₅ 和 B₄—B₈ 分别作为左旋烟碱和右旋烟碱的标准溶液系列, 用于标准曲线的拟合. 烟碱旋光异构体标准溶液避光在 -20 °C 条件下存放. 采用 HPLC-DAD 法测定烟碱旋光异构体标准系列溶液, 得到左旋烟碱和右旋烟碱的峰面积, 由各化合物的质量浓度与面积建立标准曲线, R² 应 ≥ 0.99.

1.3 样品的前处理

称取 0.2 g 烟末样品置于锥形瓶内, 加入 2 mL 5% (若无特指, 均指质量分数) 的 NaOH 溶液湿润样品, 静置 15 min; 然后加入 20 mL 正己烷溶液, 室温下超声萃取 15 min. 称取 4.0 g

无水 Na₂SO₄ 加入到一次性无菌注射器中, 然后取 2 mL 上层萃取溶液加入到注射器中, 用注射器收集过滤液于 2 mL 色谱分析瓶中待进样分析.

将卷烟样品放置于温度 (22 ± 1) °C, 相对湿度 (60 ± 2) % 的环境中平衡 48 h, 然后选平均质量在 ± 0.02 g, 平均吸阻在 ± 49 Pa/支范围内的烟支作为测试烟支. 采用直线式吸烟机, 按照每 60 s 抽吸一口, 每口抽吸容量 35 mL, 抽吸持续时间 2 s 的要求进行抽吸. 用直径 44 mm 的剑桥滤片捕集卷烟主流烟气总粒相物, 每张滤片收集 5 支卷烟的总粒相物. 抽吸完的滤片置于锥形瓶中, 在滤片上加 5 mL 5% 的 NaOH 溶液, 后续处理同烟末样品的处理.

1.4 液相色谱条件的确定

采用 Agilent 1290 高效液相色谱仪 - 二极管阵列检测器 (HPLC-DAD) 分析样品, 在适宜的检测波长条件下, 通过实验选择适宜的色谱柱、流动相和流动相添加剂, 流速 1.0 mL/min, 等度洗脱, 进样量为 10 μL.

流动相的配制方法为: 配制 1 L 流动相混合溶液, 加入 1 mL 流动相添加剂, 混合均匀.

2 结果与讨论

2.1 液相色谱柱的选择结果

烟碱旋光异构体的拆分关键在于色谱柱的选择, 与普通色谱柱相比, 更易于实现烟碱旋光异构体的分离. 对大赛璐手性柱 CHIRALPAK-IC (4.6 mm × 250 mm × 5 μm) 和大赛璐手性柱 CHIRALPAK-OJ (4.6 mm × 250 mm × 5 μm) 两种正相手性色谱柱上烟碱旋光异构体的分离情况进行考察, 结果如图 1 所示. 由图 1 可知, 在 CHIRALPAK-IC 色谱柱上烟碱旋光异构体能够实现拆分, 左旋烟碱和右旋烟碱保留时间 (RT) 分别为 13.7 min, 14.8 min, 二者相差 1.1 min; CHIRALPAK-OJ 色谱柱在流动相为

碱性条件时,不能拆分烟碱旋光异构体. 结合文献[7]中 CHIRALPAK-OJ 色谱柱分离烟碱旋光异构体需采用酸性流动相条件(如三氟乙酸)的结论,考虑到 CHIRALPAK-OJ 色谱柱为涂覆型手性色谱柱,而 CHIRALPAK-IC 色谱柱为新型键合型手性柱,稳定性更高,本文采用 CHIRALPAK-IC 色谱柱分离烟碱旋光异构体.

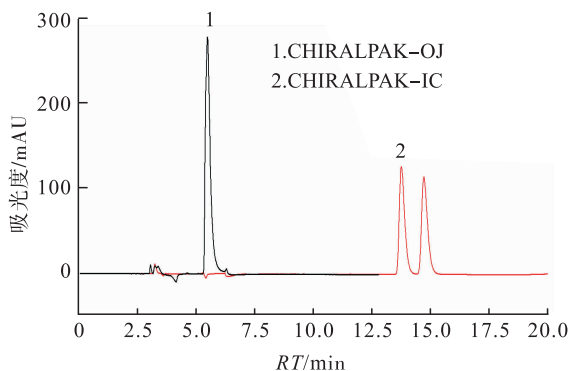


图 1 不同手性色谱柱上烟碱旋光异构体的色谱图

Fig. 1 Chromatogram of nicotine enantiomers on different chiral columns

2.2 流动相组成的优化结果

由于 CHIRALPAK-IC 色谱柱的保存溶剂为 $V(\text{正己烷}) : V(\text{异丙醇}) = 90 : 10$ 的混合溶液,因此实验中同样选用正己烷和异丙醇的混合溶液作为流动相,但需要对二者比例进行优化,实验结果如图 2 所示. 由图 2 可知,随着流动相中正己烷比例升高(由 $90 : 10$ 到 $98 : 2$),烟碱旋光异构体色谱 RT 变长,左旋烟碱和右旋烟碱 RT 差变长,但同时色谱峰型会变宽. 综合考虑,选用 $V(\text{正己烷}) : V(\text{异丙醇}) = 95 : 5$ 的混合溶液为流动相.

烟碱为碱性化合物,在流动相中添加碱性流动相添加剂,有助于烟碱保持分子状态,以实现较好的色谱分离. 流动相为 $V(\text{正己烷}) : V(\text{异丙醇}) = 95 : 5$,选择二乙胺为流动相添加剂,对其用量进行考察,结果如图 3 所示. 由图 3 a)可知,当流动相中不添加二乙胺时,色谱峰型拖尾,且左旋烟碱和右旋烟碱的分离度较差.

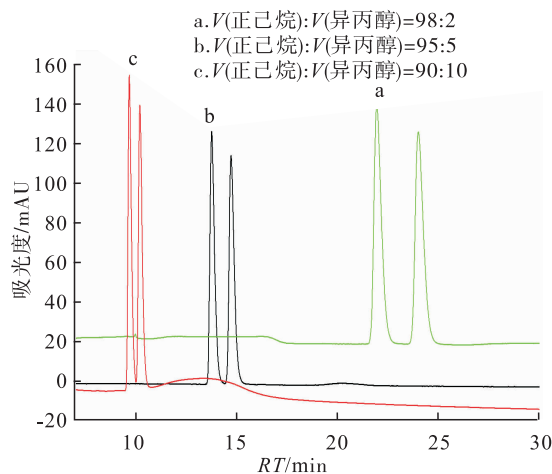


图 2 不同流动相比对优化结果的影响

Fig. 2 Influence of different mobile phase ratio on optimization results

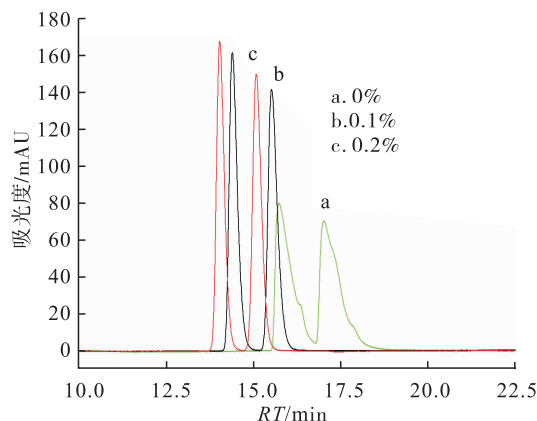


图 3 二乙胺添加量对优化结果的影响

Fig. 3 Influence of diethylamine additive amount on optimization results

由图 3 b) — c)可知,当流动相中二乙胺的量增加时,烟碱旋光异构体能够实现拆分,且峰型较好;随着二乙胺量的增加(由 0% 到 0.2%),烟碱的 RT 变短,色谱峰变窄,左旋烟碱和右旋烟碱的 RT 差也变小. 综合考虑,选用二乙胺作为流动相添加剂,适宜添加量为 0.1%.

2.3 萃取溶剂的选择结果

选用二氯甲烷、甲基叔丁基醚、正己烷 3 种萃取溶剂分别对烤烟和白肋烟中的烟碱进行萃取,在适宜的萃取条件下,考察不同萃取溶剂对萃取效果的影响,结果如图 4 所示.

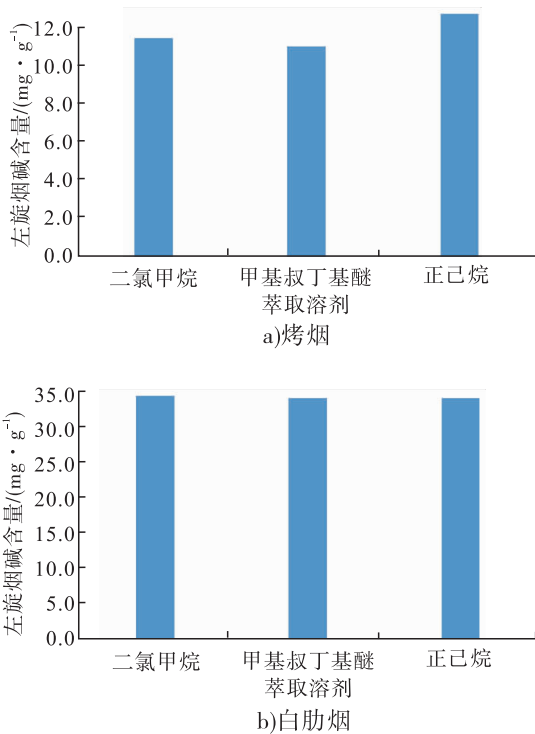


图4 不同萃取溶剂对烤烟和白肋烟烟末中烟碱的萃取效果影响

Fig. 4 Influence of different solvent on extraction efficiency of nicotine for flue-cured tobacco and burley tobacco

由图4可知,对于烤烟烟末,采用正己烷萃取效果较好,而对于白肋烟,3种溶剂萃取效果相当.这与标准YC/T 246—2008^[14]中选用正己烷为萃取溶剂一致.因此,本实验选用正己烷为萃取溶剂.

2.4 萃取条件的确定结果

2.4.1 萃取溶剂体积对萃取效果的影响 以正己烷为萃取溶剂,萃取时间15 min,超声功率40 W时,不同体积的正己烷对烤烟和白肋烟烟末中烟碱萃取效果的影响如图5所示.由图5可知,当萃取溶剂体积由10 mL增加至50 mL过程中,在添加正己烷20 mL时左旋烟碱萃取量最高,继续增加萃取溶剂反而稀释了目标物浓度,造成色谱峰较小,定量不准确.因此,选择20 mL作为正己烷的适宜添加量.

2.4.2 萃取时间和超声功率对萃取效果的影

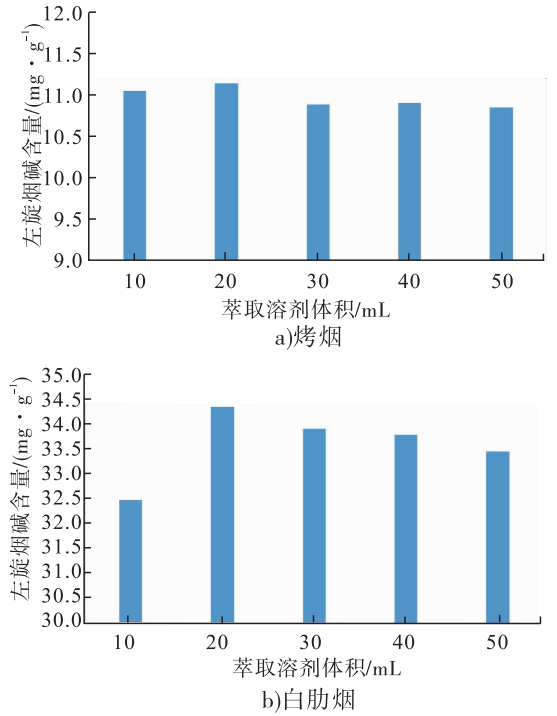


图5 萃取溶剂体积对烤烟和白肋烟烟末中烟碱的萃取效果的影响

Fig. 5 Influence of extraction solvent volume on extraction efficiency of nicotine for flue-cured tobacco and burley tobacco

响 以正己烷为萃取溶剂,萃取体积20 mL,超声功率40 W时,采用超声萃取的方式提取烤烟和白肋烟烟末中烟碱旋光异构体,超声萃取时间对萃取效果的影响如图6所示.由图6可知,当超声时间从5 min增加至15 min时,烟碱萃取量增加,15min达到最高,继续增加超声时间,萃取量降低.考虑到实验中超声水浴温度随着超声时间延长而升高,这可能会导致溶剂和烟碱的挥发,因此选择15 min为适宜的超声萃取时间.

另外,对不同超声功率(40 W,60 W,80 W,100 W)对萃取效果的影响也进行了考察,结果表明超声功率对萃取效果无明显影响,本实验选择40 W为适宜的超声功率.

2.5 检测波长的选择结果

考察二极管阵列检测器检测波长在260 ~

265 nm 范围内变化对烟碱旋光异构体响应的影 响,结果如图 7 所示. 由图 7 可知,随着检测 波长由 260 nm 增加至 265 nm,左旋烟碱和右 旋烟碱的响应呈现先增加后降低的趋势. 当检 测波长为 261 nm 时,左旋烟碱和右旋烟碱的响 应最高. 因此,选择 261 nm 适宜的检测波长.

2.6 方法表征与检验

2.6.1 工作曲线、检出限与定量限

分别将不同质量浓度的烟碱旋光异构体标准溶液 B₁— B₅ 和 B₄—B₈ 进 HPLC-DAD 仪器进行分析,得到左旋烟碱和右旋烟碱的相对峰面积,由各化

合物的质量浓度(x)与相对峰面积(y)建立标 准曲线. 将最低标准溶液逐级稀释至烟碱色谱 峰信噪比(S/N)接近 3 时,计算检出限和定量 限. 其中检出限和定量限分别为 $S/N = 3$ 和 $S/N = 10$ 时所对应的烟碱浓度,结果见表 1. 由 表 1 可知,左旋烟碱和右旋烟碱分别在 15 ~ 750 $\mu\text{g/mL}$, 0.75 ~ 30.00 $\mu\text{g/mL}$ 质量浓度范围 内,线性关系良好;二者检出限和定量限相同, 分别为 0.02 mg/g , 0.05 mg/g .

2.6.2 精密度和回收率

选用烤烟烟末、白肋 烟烟末典型样品各一个,对这两种典型样品进 行 5 次日内和日间平行测定,结果见表 2. 考察 该方法的日内和日间精密度,并在高、中、低 3 个含量水平上进行回收率的测定(样品加标 法),结果见表 3. 由表 2 和表 3 可知,本方法烟 碱的日内、日间测定结果的精密度分别小于等 于 0.85% 和 4.00%,左旋烟碱和右旋烟碱的回 收率分别为 94.93% ~ 103.70% 和 92.50% ~ 117.50%,说明该方法重复性较好,回收率较高.

2.7 样品测定结果

选取不同类型烟草和烟草制品 26 个,包括 烟叶样品 11 个(烤烟 5 个、白肋烟 2 个、香料烟

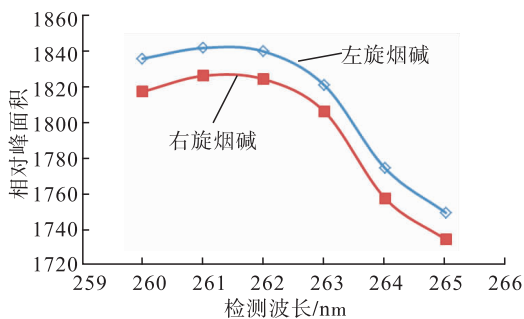


图 7 检测波长的优化

Fig. 7 Optimization of detection wavelength

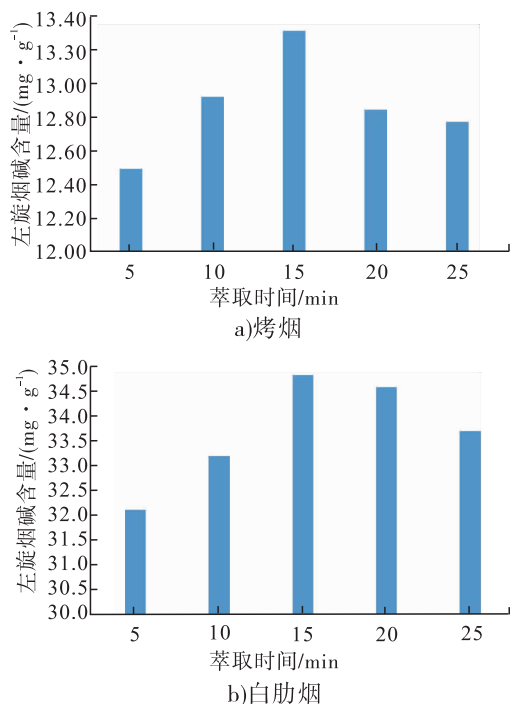


图 6 萃取时间对烤烟和白肋烟烟末中 烟碱的萃取效果的影响

Fig. 6 Influence of extraction time on extraction efficiency of nicotine for flue-cured tobacco and burley tobacco

表 1 本文方法的线性方程、检出限和定量限

Table 1 Linear equation, LODs and LOQs of the paper method

化合物	质量浓度范围/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	回归方程	R^2	检出限/ $(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$	定量限/ $(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$
左旋烟碱	15 ~ 750	$y = 8.51x - 7.55$	0.999 8	0.02	0.05
右旋烟碱	0.75 ~ 30.00	$y = 8.70x - 0.96$	0.999 8	0.02	0.05

1个、晒红烟1个、晒黄烟2个),成品卷烟烟丝样品15个(烤烟5个、混合型烟5个、雪茄烟5个),对其烟碱旋光异构体进行测定,结果见表4和表5.表4,表5中左旋烟碱和右旋烟碱的所有测定结果均在定量限之上.由表4可知,11个烟叶样品中仅有1个样品检出右旋烟碱,其质量在总烟碱中占比0.18%.由表5可知,15

个成品卷烟烟丝样品中有5个样品检出右旋烟碱,其质量在总烟碱中占比0.45%~0.70%.另外,由于雪茄烟的抽吸方式不同于传统卷烟,实验中仅对10个传统卷烟(包括5个烤烟和5个混合型卷烟样品)进行了抽吸,对卷烟主流烟气中左旋烟碱和右旋烟碱质量的分析显示,10个卷烟样品主流烟气中均检出了左旋烟碱和右旋烟碱,其中右旋烟碱质量占总烟碱比例为2.08%~3.19%.由10个卷烟烟丝和对应的主流烟气中左旋烟碱和右旋烟碱含量的比较可知,卷烟主流烟气中右旋烟碱质量占总烟碱的比例高于卷烟烟丝,这主要是因为卷烟烟丝在燃吸过程中部分左旋烟碱会转化为右旋烟碱^[3].

表2 用本文方法检测样品的日内和日间精密度

Table 2 Intra-day and inter-day precisions of the paper method %

样品	日内精密度	日间精密度
烤烟	0.78	4.00
白肋烟	0.85	3.90

表3 用本文方法检测样品的回收率(n=3)

Table 3 Recovery of samples with the paper method(n=3) mg/g

样品	烟碱含量		加标量		实测量		回收率/%	
	左旋烟碱	右旋烟碱	左旋烟碱	右旋烟碱	左旋烟碱	右旋烟碱	左旋烟碱	右旋烟碱
烤烟	12.60	0.00	6.95	0.30	19.60 ± 0.30	0.33 ± 0.02	98.72 ~ 101.80	105.00 ~ 115.00
			27.80	1.20	26.24 ± 0.95	0.68 ± 0.03	95.43 ~ 102.60	109.20 ~ 117.50
			19.90	0.30	38.92 ± 0.57	1.23 ± 0.10	94.93 ~ 97.75	94.17 ~ 110.80
白肋烟	34.10	0.00	39.50	0.60	56.28 ± 0.30	0.33 ± 0.02	104.80 ~ 103.70	103.00 ~ 116.70
			79.00	1.20	74.54 ± 1.22	0.61 ± 0.05	99.62 ~ 102.90	93.33 ~ 110.00
			111.15 ± 0.01	1.21 ± 0.10	98.27 ~ 98.28	92.50 ~ 109.20		

表4 烟叶样品测试结果

Table 4 The test results of tobacco samples

样品编号	样品信息	左旋烟碱含量/(mg · g ⁻¹)	右旋烟碱含量/(mg · g ⁻¹)	右旋烟碱质量占总烟碱比例/%
1	烤烟	14.56	ND	—
2	烤烟	12.40	ND	—
3	烤烟	22.46	ND	—
4	烤烟	20.57	ND	—
5	烤烟	10.03	ND	—
6	白肋烟	24.14	ND	—
7	白肋烟	28.74	ND	—
8	香料烟	7.46	ND	—
9	晒红烟	11.08	ND	—
10	晒黄烟	21.94	0.039	0.18
11	晒黄烟	21.99	ND	—

注:ND表示未检出,下同

表5 卷烟烟丝和主流烟气中左旋烟碱和右旋烟碱的含量

Table 5 The contents of S-(-)-nicotine and R-(+)-nicotine in cigarette cut tobacco and corresponding mainstream smoke

样品编号	样品信息	卷烟烟丝			卷烟主流烟气		
		左旋烟碱含量 / (mg · g ⁻¹)	右旋烟碱含量 / (mg · g ⁻¹)	右旋烟碱质量占总烟碱比例/%	左旋烟碱含量 / (mg · 支 ⁻¹)	右旋烟碱含量 / (μg · 支 ⁻¹)	右旋烟碱质量占总烟碱比例/%
1	烤烟	15.70	0.11	0.70	0.85	20.67	2.39
2	烤烟	16.68	ND	—	0.68	19.48	2.77
3	烤烟	16.71	0.09	0.53	0.63	18.14	2.79
4	烤烟	19.38	ND	—	0.87	21.96	2.47
5	烤烟	14.42	ND	—	0.54	15.98	2.87
6	混合型	17.09	ND	—	0.73	21.54	2.86
7	混合型	17.39	ND	—	0.54	11.43	2.08
8	混合型	17.68	0.09	0.49	0.59	16.03	2.64
9	混合型	15.85	ND	0.62	0.12	3.89	3.19
10	混合型	17.46	0.08	0.45	0.62	19.34	3.02
11	雪茄	13.07	ND	—	—	—	—
12	雪茄	13.17	ND	—	—	—	—
13	雪茄	12.01	ND	—	—	—	—
14	雪茄	13.20	ND	—	—	—	—
15	雪茄	15.31	ND	—	—	—	—

3 结论

本文选择大赛璐手性色谱柱 CHIRALPAK-IC,以 V(正己烷):V(异丙醇)=95:5 的混合溶液为流动相,以二乙胺为流动相添加剂,在正相色谱模式下,采用手性色谱柱-HPLC-DAD法实现了烟草及烟草制品中烟碱旋光异构体的分离分析.对该分析方法的表征和检验结果表明:左旋烟碱和右旋烟碱分别在 15~750 μg/mL, 0.75~30.00 μg/mL 质量浓度范围内线性关系良好,左旋烟碱和右旋烟碱的检出限和定量限分别为 0.02 mg/g 和 0.05 mg/g;烟碱的日内、日间测定结果的回收率分别小于等于 0.85%, 4.00%;左旋烟碱和右旋烟碱的回收率分别为 94.93%~103.70%, 92.50%~117.50%,表明该方法的精密度和回收率均较好.

选取不同类型烟草及烟草制品 26 个,使用该方法对其中烟碱旋光异构体进行测定,结果表明:烟草中的烟碱主要为左旋烟碱,11 个烟

叶样品中仅有 1 个样品检出右旋烟碱,其质量占总烟碱的 0.18%;15 个成品卷烟烟丝样品中有 5 个样品检出右旋烟碱,其质量占总烟碱的 0.45%~0.70%;10 个成品卷烟烟丝和主流烟气中,卷烟主流烟气右旋烟碱其质量在总烟碱中的占比明显高于卷烟烟丝.这主要是因为卷烟烟丝在燃吸过程中部分左旋烟碱会转化为右旋烟碱.

参考文献:

- [1] 谢剑平.烟草与烟草化学成分[M].北京:化学工业出版社,2011.
- [2] CLAYTON P, LU A, BISHOP L. The pyrolysis of (-)-(S)-nicotine: Racemization and decomposition[J]. Chirality, 2010, 22(4):442.
- [3] LIU B Z, YAO W, SU Q D. Racemization of S-(-)-nicotine during smoking and its relationship with pyrolysis process[J]. Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, 2008, 81(2): 157.

- [4] GORROD J W, PEYTON J. Analytical determination of nicotine and related compounds and their metabolites [M]. Amsterdam: Elsevier, 1999: 191.
- [5] ARMSTRONG D W, WANG X, LEE J T, et al. Enantiomeric composition of nornicotine, anatabine, and anabosine in tobacco [J]. Chirality, 1999, 11(1): 82.
- [6] MESNARD F, GIRARD S, FLINIAUX O, et al. Chiral specificity of the degradation of nicotine by *Nicotiana glauca* cell suspension cultures [J]. Plant Science, 2001, 161(5): 1011.
- [7] TANG Y, ZIELINSKI W L, BIGOTT H M. Separation of nicotine and nornicotine enantiomers via normal phase HPLC on derivatized cellulose chiral stationary phases [J]. Chirality, 1998(10): 364.
- [8] ARMSTRONG D W, SPINO L A, HAN S M, et al. Enantiomeric resolution of racemic nicotine and nicotine analogues by microcolumn liquid chromatography with β -cyclodextrin inclusion complexes [J]. Journal of Chromatography, 1987, 411: 490.
- [9] KODAMA S, MORIKAWA A, NAKAGOMI K, et al. Enantioseparation of nicotine alkaloids in cigarettes by CE using sulfated β -CD as a chiral selector and a capillary coated with amino groups [J]. Electrophoresis, 2009, 30(2): 349.
- [10] RAVARD A, CROOKS P A. Chiral purity determination of tobacco alkaloids and nicotine-like compounds by ^1H NMR spectroscopy in the presence of 1, 1'-Binaphthyl-2, 2'-Diylphosphoric acid [J]. Chirality, 1996, 8(4): 295.
- [11] THUY T T T, DUONG T D, KHANH P N, et al. NMR spectroscopy using a chiral lanthanide shift reagent to determine the enantiomeric purity of nicotine and the geometric parameters of lanthanide-nicotine complex [J]. Tap Chi Hoa Hoc, 2010, 48: 653.
- [12] CLAYTON P, VAS C A, BUI T T, et al. Mcadam K, spectroscopic studies on nicotine and nornicotine in the UV region [J]. Chirality, 2013, 25(5): 288.
- [13] 庞永强, 费婷, 张洪非, 等. 一种无烟气烟草制品中烟碱的手性分析合相色谱串联质谱法: 106896174 A [P]. 2017-06-27.
- [14] 全国烟草标准化技术委员会. 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.