

正交法优化微波辅助提取废次烟叶中烟碱的工艺

黄飞¹, 屈飞强¹, 李长江¹, 陈海龙²

(1.黄山学院化学化工学院, 安徽 黄山 245041; 2.安徽中烟工业有限责任公司, 安徽 黄山 245000)

摘要: 以废次烟叶为原料, 通过正交试验法优化了微波辅助提取烟碱的工艺。考察了浸泡时间、固液比、微波功率、微波辐射时间对烟碱提取率的影响。结果表明, 微波辅助提取烟碱的最佳条件为: 微波功率为 800 W, 微波辐射时间为 7 min, 浸泡时间 4 h, 固液比为 1 : 7, 在该优化条件下, 烟碱提取率为 98.68 %。

关键词: 废次烟叶; 微波辅助提取; 烟碱; 正交试验

中图分类号: TS49 文献标志码: A 文章编号: 1007-1032(2015)02-0132-04

Optimization of nicotine extraction with microwave-assisted method from discarded tobacco leaves by orthogonal experiment

Huang Fei¹, Qu Feiqiang¹, Li Changjiang¹, Chen Hailong²

(1.College of Chemistry and Chemical Engineering, Huangshan University, Huangshan, Anhui 245041, China; 2.China Tobacco Anhui Industrial Co., Ltd., Huangshan, Anhui 245000, China)

Abstract: Microwave-assisted extraction of nicotine from discarded tobacco leaves was optimized through orthogonal experiment. The effects of soaking time, ratios of solid to liquid, microwaving power, microwaving time on the extraction yield of nicotine were investigated. The results showed that the optimum microwaving power for nicotine extraction through microwave-assisted method was 800 W, the optimum microwaving time was 7 min, the optimum soaking time was 4 h, and the optimum ratios of solid to liquid is 1 : 7. Under these conditions the extraction rate of nicotine was up to 98.68 %.

Keywords: discarded tobacco leaves; microwave-assisted; nicotine; extraction; orthogonal experiment

烟碱又称为尼古丁, 是烟叶的主要成分之一。长期以来, 烟碱被认为是烟叶中的主要毒性物质, 其实这是一种误解。中国科学院生物物理研究所赵保路教授课题组研究发现, 烟叶烟气中的自由基、多环芳烃、亚硝胺等主要有害物质才是香烟中真正的健康“杀手”, 它们造成人体组织和细胞氧化, 导致癌症等疾病的发生^[1]。流行病学研究报告表明, 烟碱是一种较好的抗氧化剂, 可以有效清除活性氧自由基, 能够抑制多巴胺自氧化; 烟碱可以络合金属铜和锌, 防止其在脑中积聚, 预防并降低老年痴

呆症和帕金森氏综合症的发病率^[2-3]; 烟碱可以治疗行为异常、认知障碍、精神分裂症、抑郁症等, 对妇女乳腺癌、子宫内膜癌、子宫肌瘤、子宫内膜异位症、纤维腺瘤、纤维囊肿等雌激素依赖性疾病有较好的疗效^[1]。烟碱还可以用于吸烟者戒烟, 减轻戒烟时出现的戒断症状, 提高戒烟的成功率, 避免吸烟产生的有害物质对身体的毒害^[4-5]。烟碱作为杀虫剂, 具有高效、广谱性、持效期长、低毒、对天敌有选择性、内吸性强、对刺吸式口器害虫防治有特效^[1]等优点。

目前从烟叶中提取烟碱的常见方法有溶剂萃取法^[6]、液膜萃取法^[7]、超临界萃取法^[8]、水蒸汽蒸馏法^[9]、离子交换法^[10]、连续逆流提取法^[11]、超声辅助酶法^[12]等。溶剂萃取法溶液分离不彻底,烟碱提取率不高;水蒸汽蒸馏法所需设备庞大,能耗较高,烟碱提取率和纯度较低;液膜萃取法、超临界萃取法、离子交换法、连续逆流提取法、超声辅助酶法等方法提取烟碱条件要求较高,后处理过程复杂,对环境有污染,烟碱提取率和纯度不高。微波辅助提取(MAE)是将微波能与物质的分离纯化耦合的快速有效手段,它是集化学分离提取技术、微波加热技术于一体的新型提取方法,被广泛用于中药材有效成分的提取中。它采用微波加热,温度梯度较小,可以对不同材料进行选择性的加热,微波转换热效率较高,降低反应能耗^[13-14]。在微波辅助提取过程中,微波加热使植物细胞内的极性物质吸收微波能量,细胞内温度迅速升高,在细胞表面形成微小的裂纹和空洞,使细胞外溶剂较容易进入细胞内,从而达到快速提取分离烟碱的目的^[15]。因此微波辅助提取烟碱原料,试剂消耗少,提取时间短,提取温度低,产品质量好,提取率较高,容易实现工业化生产^[16],与以上烟碱提取方法相比较,微波辅助提取法更方便简捷,精确度、准确度更高。笔者以废次烟叶为原料,利用 MAE 法提取烟碱,采用单因素试验和正交试验法考察了浸泡时间、固液比、微波功率、微波辐射时间等因素对烟碱提取率的影响,获得了微波辅助提取烟碱的最佳工艺条件。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

废次烟叶购于黄山市烟草收购站,批号 20131015。99%烟碱标准品购于西安云芝生物科技 有限公司,批号 20140216。甲基橙、氯仿、乙醇、柠檬酸磷酸氢二钠缓冲溶液均为分析纯,购于 中国国药化学试剂有限公司。

主要仪器有 UV-2100 紫外可见分光光度计(北京北分瑞利分析仪器有限公司);NMS72SF 型 微波炉(上海微波炉有限公司);FZ102 型微量植物 粉碎机(上海申光仪器仪表有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 烟碱标准曲线的绘制

吸取烟碱标准液 0.20、0.40、0.60、0.80、1.00 mL,

分别注入 60 mL 分液漏斗中,加入柠檬酸磷酸氢二 钠缓冲溶液 2 mL、甲基橙溶液 2 mL,混合均匀后 加入氯仿 5 mL,萃取 2 min,静置分层,取氯仿层 溶液,加入 1 cm 比色皿中,测其波长 420 nm 处的 吸光度^[19]。以吸光度为纵坐标,烟碱体积分数为横 坐标作图,绘制标准曲线,回归方程 $Y=0.354\ 32X-0.023\ 26$,其中 Y 为吸光度, X 为烟碱体积分数,相 关系数 $r=0.999\ 5$ 。

1.2.2 微波辅助提取烟碱

取 10.00 g 废次烟叶,用微型植物粉碎机粉碎, 以一定的固液比加入乙醇,浸泡一定时间后,以一定 功率的微波处理一定时间,冷却后于 3 500 r/min 转速 下离心 15 min,取上清液 1 mL,加入 2 mL 柠檬酸磷 酸氢二钠缓冲液和 2 mL 饱和的甲基橙溶液,摇匀后 加入 5 mL 氯仿,振荡 3 min,静置分层。取氯仿层溶 液加入 1 cm 比色皿中,测其 420 nm 处吸光度^[20-21]。 用回归方程计算出烟碱体积分数,得烟碱提取率。

1.2.3 单因素试验

分别考察浸泡时间、固液比、微波功率、微波 辐射时间等因素对烟碱提取率的影响。

1) 取 10.00 g 废次烟叶,以 1:3 的固液比加 入乙醇,以 400 W 的微波辐射 3 min,测定浸泡时 间分别为 2、3、4、5、6 h 的烟碱提取率。

2) 取 10.00 g 废次烟叶,以 1:3 的固液比加 入乙醇,浸泡时间为 2 h,以 400 W 的微波辐射, 测定微波辐射时间分别为 3、4、5、6、7 min 的烟 碱提取率。

3) 取 10.00 g 废次烟叶,浸泡时间为 2 h,以 400 W 的微波辐射 3 min,测定固液比分别为 1:3、 1:4、1:5、1:6、1:7 的烟碱提取率。

4) 取 10.00 g 废次烟叶,以 1:3 的固液比加 入乙醇,浸泡时间为 2 h,微波辐射 3 min,测定微 波功率分别为 400、500、600、700、800 W 的烟碱 提取率。

1.2.4 正交试验

采用正交试验法对烟碱提取工艺条件进行优化。 以烟碱的提取率作为评价指标,考察浸泡时间(A)、微 波辐射时间(B)、固液比(C)、微波功率(D)对烟碱提取 率的影响。正交试验影响因素和水平见表 1。

表1 正交试验的因素和水平

水平	A/h	B/min	C	D/W
1	4	5	1 5	600
2	5	6	1 6	700
3	6	7	1 7	800

2 结果与分析

不同浸泡时间、微波辐射时间、固液比、微波

表1 不同浸泡时间、微波辐射时间、固液比、微波功率的烟碱提取率

浸泡时间/h	提取率/%	微波辐射时间/min	提取率/%	固液比	提取率/%	微波功率/W	提取率/%
2	68.42	3	68.42	1 3	68.42	400	68.42
3	70.45	4	73.23	1 4	73.24	500	76.58
4	73.96	5	77.91	1 5	80.92	600	87.13
5	74.57	6	78.29	1 6	82.16	700	88.16
6	74.76	7	78.31	1 7	82.34	800	89.07

根据不同浸泡时间对应的烟碱提取率,由偏差分析可知,烟碱提取率的标准偏差为 2.844,相对标准偏差为 3.926%,烟碱提取率的标准偏差和相对标准偏差较小,说明浸泡时间对应的烟碱提取率在误差范围内波动,波动幅度较小,具有较高的准确度。

2.1.2 微波辐射时间对烟碱提取率的影响

随着微波辐射时间的增加,烟碱的提取率也随之升高,当微波辐射 5 min 后,增加趋势逐渐变小并趋于平稳。若延长微波辐射时间,溶剂挥发较多,烟碱提取率降低;若时间太短,烟叶中的烟碱未能充分溶出,烟碱提取率偏低,因此,选择最佳微波辐射时间为 5 min。

根据不同微波辐射时间对应的烟碱提取率,由偏差分析可知,烟碱提取率的标准偏差为 3.355,相对标准偏差为 4.459%,烟碱提取率的标准偏差和相对标准偏差较小,说明微波辐射时间对应的烟碱提取率在误差范围内波动,波动幅度较小,具有较高的准确度。

2.1.3 固液比对烟碱提取率的影响

随着固液比的逐步减小,烟碱提取率逐渐升高。当固液比降低至 1 5 后,烟碱提取率趋于平稳。仅增加溶剂量,并不能提高烟碱提取率,因此,选择最佳固液比为 1 5。

功率下的烟碱提取率列于表 1。

2.1 单因素试验结果

2.1.1 浸泡时间对烟碱提取率的影响

随着浸泡时间的增加,烟碱的提取率逐渐升高,浸泡 4 h 后,烟碱提取率增加逐渐放缓并趋于平稳,因此选择最佳浸泡时间为 4 h。

根据不同固液比对应的烟碱提取率,由偏差分析可知,烟碱提取率的标准偏差为 3.273,相对标准偏差为 4.228%,烟碱提取率的标准偏差和相对标准偏差较小,说明固液比对应的烟碱提取率在误差范围内波动,波动幅度较小,具有较高的准确度。

2.1.4 微波功率对烟碱提取率的影响

随着微波功率的增大,烟碱的提取率升高,当辐射功率达到 600 W 后,增加趋势逐渐变小,因此,选择最佳微波功率为 600 W。

根据不同微波功率对应的烟碱提取率,由偏差分析可知,烟碱提取率的标准偏差为 4.055,相对标准偏差为 4.953%,烟碱提取率的标准偏差和相对标准偏差较小,说明微波功率对应的烟碱提取率在误差范围内波动,波动幅度较小,具有较高的准确度。

2.2 正交试验结果

正交试验结果列于表 2。由表 2 可知,4 种因素对烟碱提取率的影响程度大小依次为微波功率、微波辐射时间、浸泡时间、固液比,最佳工艺条件为 $D_3B_3A_1C_3$,即微波功率为 800 W,微波辐射时间为 7 min,浸泡时间为 4 h,固液比为 1 7,在此条件下烟碱的提取率最高为 98.68 %。

表2 正交试验结果

编号	A	B	C	D	提取率/%
1	4	5	1 5	600	80.56
2	4	6	1 6	700	86.45
3	4	7	1 7	800	98.68
4	5	5	1 6	600	90.07
5	5	6	1 7	700	81.08
6	5	7	1 5	800	90.23
7	6	5	1 7	600	85.67
8	6	6	1 5	700	90.98
9	6	7	1 6	800	81.59
K_1	265.690	256.300	261.770	243.230	
K_2	261.380	258.510	258.110	262.350	
K_3	258.240	270.500	265.430	279.730	
k_1	88.563	85.433	87.257	81.077	
k_2	87.127	86.170	86.037	87.450	
k_3	86.080	90.167	88.477	93.243	
R	2.483	4.734	2.440	12.166	

由表 3 方差分析结果可知,微波功率对试验结果影响较显著;微波辐射时间对试验结果影响显著,浸泡时间、固液比对试验结果影响不显著。各因素对试验结果的影响大小依次为微波功率、微波辐射时间、浸泡时间、固液比。

表3 方差分析结果

方差来源	偏差平方和	自由度	方差比	临界值	显著性
A	9.326	2	1.044	19.000	不显著
B	38.920	2	4.358	19.000	显著
C	8.930	2	1.000	19.000	不显著
D	222.910	2	24.844	19.000	较显著
误差	8.930	2			

由极差和方差分析可以得出:微波功率对烟碱的提取率影响最大,当微波功率为 800 W 时,烟碱的提取率最高。微波辐射时间对烟碱的提取率影响次于微波功率,随着微波功率的升高,烟碱的提取率逐渐增加。浸泡时间和固液比对烟碱的提取率也有影响,但不显著,随着微波功率和微波辐射时间的增加,烟碱的提取率逐渐增加。

参考文献:

- [1] 魏荣宝. 烟草植物在有机医药和农药中的应用[J]. 化学教育, 2009, 30(9): 1-4.
- [2] 赵保路. 尼古丁预防帕金森氏综合症和老年痴呆症的分子机理研究[J]. 生物物理学报, 2007, 23(2): 81-91.
- [3] 谢渝湘, 刘强, 张杰, 等. 烟碱预防帕金森氏综合症和老年痴呆症的分子机理[J]. 中国烟草学报, 2006, 12(4): 25-30.

- [4] 黄琳, 殷彤, 董振香. 戒烟新药尼古丁透皮贴剂的临床应用和评价[J]. 中国新药杂志, 2009, 18(20): 1926-1929.
- [5] 徐光奇, 吴金虎. 尼古丁透皮贴片和戒烟作用[J]. 中国药理学杂志, 1997, 32(5): 268-270.
- [6] 黄兰芳, 胡伟, 谢建伟, 等. 加速溶剂萃取法提取烟叶挥发性成分条件的优化[J]. 光谱实验室, 2010, 27(4): 1406-1410.
- [7] 王献科, 李玉萍. 液膜法提取烟草中的尼古丁[J]. 信阳师范学院学报, 2001, 10(4): 450-453.
- [8] Alagic S, Stanic I. Chemical composition of the supercritical CO₂ extracts of the Yaka, Peilep and Otlja tobaccos[J]. Journal of Essential Oil Research, 2006, 18(2): 185-188.
- [9] 卫青, 刘维涓, 蔡卿, 等. 烟碱蒸馏简易装置及实验条件研究[J]. 云南化工, 2004, 31(2): 47-50.
- [10] 明宁宁, 郭俊成, 刘强, 等. 烟草中生物碱的提取和分析方法研究进展[J]. 中国烟草学报, 2007, 13(3): 64-69.
- [11] 韩丽, 谢秀琼, 杨明, 等. 丹参动态阶段连续逆流提取工艺研究[J]. 中成药, 2009, 31(5): 721-724.
- [12] 朱松, 姜在祥, 陈尚卫, 等. 超声辅助酶法提取废次烟叶中绿原酸、烟碱工艺研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(5): 181-184.
- [13] 周芳, 赵鑫, 宫婕, 等. 响应面法优化微波辅助提取红皮云杉多酚工艺[J]. 食品工业科技, 2014, 35(10): 275-283.
- [14] 曹崇江, 鞠兴荣, 刘晓庚. 微波协同固体酸合成肉桂酸异丙酯[J]. 食品科学, 2013, 34(24): 1-5.
- [15] 马俊勃. 烟碱提取的研究进展[J]. 广东化工, 2011, 38(10): 72-73.
- [16] Zhang B, Yang R, Liu C Z. Microwave-assisted extraction of chlorogenic acid from flower buds of *Lonicera japonica* Thunb[J]. Separation and Purification Technology, 2008, 62(2): 480-483.
- [17] 肖遂, 周冀衡, 杨虹琦, 等. 气-质联用(GC/MS)法测定烟草生物碱的方法优化[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2010, 36(1): 22-25.
- [18] 吴继忠, 戴莉, 徐清泉, 等. 烟碱形态与卷烟烟气颗粒物 pH 的关联性研究[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2014, 40(3): 253-256.
- [19] 张立杰. 烟碱的快速分析[J]. 湖南化工, 1999, 29(3): 43-44.
- [20] Leslie D, Millen C, Raymond Murphy W. Countercurrent extraction of nicotine from tobacco juice[J]. Industrial and Engineering Chemistry Research, 1993, 32(12): 3056-3060.
- [21] 王亚红, 王亚丽, 曲小妹. 废次烟叶中烟碱微波提取工艺研究[J]. 河北化工, 2010, 33(7): 19-21.

责任编辑: 罗慧敏

英文编辑: 罗维