

定氮法测定鱼藤酮辣椒碱悬浮剂中辣椒碱含量

刘哲鹏¹,倪德浩²,陆丽芳²,杨世霆³ (1. 上海理工大学医疗器械与食品学院,上海 200093; 2. 上海三友生物科技开发有限公司,上海 201407; 3. 上海交通大学药学院,上海 200240)

摘要 目的:建立鱼藤酮辣椒碱悬浮剂辣椒碱含量的化学定氮分析方法。方法:定氮法测定悬浮剂中辣椒碱含量。结果用空白对照及蛋白质氮含量进行校正。结果:定氮法测定辣椒碱含量均值为 0.25 g/100 mL (精密度 RSD 1.77%),回收率 100.67% (RSD 1.65%),蛋白质对辣椒碱含量测定的影响在误差控制范围内。结论:本方法操作简便,重现性好,可作为鱼藤酮辣椒碱悬浮剂中辣椒碱质量控制方法。

关键词 定氮法;鱼藤酮辣椒碱悬浮剂;含量测定

中图分类号:R927 文献标识码:A 文章编号:1006-0111(2009)01-0043-03

Determination of capsaicin in rotenone-capsaicin suspension by nitrogen determination method

LU Zhe-peng¹, NI De-hao², LU Li-fang², YANG Shi-ting³ (1. School of Medical Instrument and Food Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China; 2. San You Biotech Development Co., Ltd., Shanghai 201407, China; 3. School of Pharmacy, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

ABSTRACT Objective: To establish a nitrogen determination method for determining capsaicin in rotenone-capsaicin suspension. **Methods:** The capsaicin of suspension was determined by the nitrogen determination method. The results were regulated by blank control and protein control. **Results:** The content in suspension was 0.25 g/100 mL and RSD was 1.77%. The mean average recovery of the method was 100.67% and RSD was 1.65%. The error of the protein influence was in control. **Conclusion:** The method was simple and accurate. It could be used to quality control of the rotenone-capsaicin suspension.

KEY WORDS nitrogen determination method; rotenone-capsaicin suspension; determination of content

鱼藤酮作为一种有效的植物源杀虫剂,具有活性高、杀虫谱广的特点,在无公害农产品的害虫防治方面,具有较好的应用前景^[1,2]。我们发现将鱼藤酮与辣椒碱复配制成悬浮剂后产生良好的协同作用,有效提高鱼藤酮的杀虫效果。当鱼藤酮与辣椒碱质量比为 18:1 时室内毒力的检测结果表明两者的协同效果最好。此时,鱼藤酮与辣椒碱相比,质量分数大,采用高效液相检测辣椒碱含量时需要提纯后进行检测,方法复杂,且根据文献报道,辣椒碱同系物二氢辣椒碱、降二氢辣椒碱结构相似,都有杀虫活性,采用外标定量方法方法繁琐、检测耗时。辣椒碱结构中含有 1 个氮原子,鱼藤酮是不含氮的黄酮类物质,可以根据定氮方法检测鱼藤酮辣椒碱悬浮液中辣椒碱含量。本研究采用钨酸钠和硫酸溶液除去悬浮液中蛋白质,通过测定剩余氮含量来定量辣椒碱含量^[3,4]。

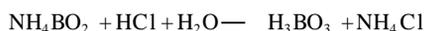
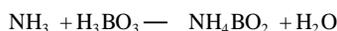
1 仪器与试剂

作者简介:刘哲鹏(1974-),男,高级工程师。Tel: 13917505026, E-mail: zhepengliu@yahoo.com.cn.

半微量定氮蒸馏装置;BS224S 电子分析天平。鱼藤酮提取物(广西施乐农化科技开发有限责任公司,批号 070508);辣椒碱提取物(中化(青岛)生物技术有限公司,批号 070615);辣椒碱对照品(Sigma 公司);鱼藤酮辣椒碱悬浮剂(自配,批号 20071201、20071202、20071203);钨酸钠、硫酸铜、硫酸钾、硼酸、硫酸等均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 方法原理 凯氏定氮方法进行半微量含量测定,将含氮有机化合物在硫酸及催化剂硫酸钾和硫酸铜的作用下,加强热使有机氮转化为硫酸铵,加强碱成碱性蒸馏,则氮随水蒸气而蒸出,并用硼酸溶液吸收,用强酸滴定液滴定,依据强酸的消耗量可计算出被测物质的含氮量,进一步换算成辣椒碱的含量。



悬浮剂中植物蛋白氮含量的测定,将鱼藤酮辣椒碱悬浮剂中加入硫酸溶液,充分混匀,静置 10 min 待其完全酸化后加入钨酸钠,充分混匀,静置 10 min,过滤,小心洗涤,滤得物采用上述凯氏定氮法检测其氮含量。

2.2 鱼藤酮辣椒碱悬浮剂配制 称取鱼藤酮提取物 18.13 g (含量 25.1%),辣椒碱提取物 1.61 g (含量 15.6%),加入吐温、司盘适量,加入乙醇-丙酮混合溶媒(2:1)约 50 mL,混匀,加水约 30 mL,乳匀,定容至 100 mL,配制成 4.8%鱼藤酮辣椒碱悬浮剂,共配制 3 批鱼藤酮辣椒碱悬浮剂(批号分别为 20071201、20071202、20071203)。

2.3 供试品样品配制 取鱼藤酮辣椒碱悬浮剂 10 mL,至 250 mL 的磨口三角烧瓶中,在旋转蒸发器上减压浓缩至基本无溶液后,加 60%乙醇溶液 10 mL,移入分液漏斗中,加入 1 mol/L 浓度的盐酸 1 mL,使之成酸性,用 20 mL 乙醚萃取,分离乙醚液。用乙醚液反复萃取 3 次,每次 10 mL,合并乙醚萃取液,蒸馏水洗涤乙醚萃取液 2 次,每次 5 mL,乙醚萃取液移入 250 mL 的磨口三角烧瓶中,在旋转蒸发器上减压浓缩至基本无乙醚后,加入 50 mL 丙酮氯化钠溶液溶解,静置 30 min,过滤,滤液收集至 100 mL 的定氮瓶中。如色油出现在漏斗下口,则再用 10 mL 丙酮氯化钠溶液洗涤。减压蒸馏除去有机溶剂,加入硫酸铜和硫酸钾消化剂 1 g(1:9)及 10 mL 硫酸,稍摇匀后于瓶口放一小漏斗,将瓶以 45 度角斜支于有小孔的石棉网上。小心加热,将内容物炭化完全后取出,冷却,小心加入 20 mL 水至定氮瓶。将定氮瓶内容物移入 50 mL 容量瓶中,并用少量水洗涤氮瓶,加水至刻度,混匀备用,得到样品()。

取空白溶液 10 mL,重复上述操作,得到空白对照样品()。

取鱼藤酮辣椒碱悬浮剂 10 mL,用钨酸钠和硫酸溶液沉淀蛋白质,蛋白质沉淀物重复上述操作得到蛋白质氮含量测定样品()。

2.4 辣椒碱含量测定方法 使用半微量定氮蒸馏装置,于水蒸气发生瓶内装水至三分之二处,加入数粒玻璃珠,加甲基红指示液数滴及数毫升硫酸,加热煮沸水蒸气发生瓶内水。

向 50 mL 三角烧瓶内加入 10 mL 硼酸溶液及 1~2 滴混合指示液,并使冷凝管的下端插入液面下;精密吸取样品 10 mL 由小漏斗流入反应室,并以 10 mL 水洗涤漏斗并流入反应室内。将 10 mL 氢氧化钠溶液缓缓加入反应室,将玻塞盖紧。夹紧螺旋夹,开始蒸馏,蒸馏 5 min,移动接收瓶,液面离开冷

凝管下端,再蒸馏 1 min,用少量水冲洗冷凝管下端外部。取下接收瓶,以盐酸标准滴定溶液为滴定液,用 2 mL 的半微量滴定管滴定溶液至蓝紫色为终点。

取样品和重复上述操作。

鱼藤酮辣椒碱悬浮剂中辣椒碱得氮含量 = 总氮含量 - 蛋白质氮的含量 - 空白对照

2.5 辣椒碱含量计算

$$X = [(V_1 - V_2 - V_3) \times C \times 0.3054] / (m \times 10/50) \times F \times 100$$

式中:

X: 试样中辣椒碱的含量,单位为克每百毫升 (g/100 mL)

V_1 : 试样消耗盐酸标准滴定液的体积,单位为毫升 (mL)

V_2 : 试样空白消耗盐酸标准滴定液的体积,单位为毫升 (mL)

V_3 : 试样蛋白质消耗盐酸标准滴定液的体积,单位为毫升 (mL)

C: 盐酸标准滴定溶液浓度,单位为摩尔每升 (mol/L)

0.3054 - 氮换算为辣椒碱的系数

m: 试样的体积,单位为毫升 (mL)

2.6 鱼藤酮辣椒碱悬浮剂中蛋白质含氮占辣椒碱含氮量比值测定 测定总氮含量、蛋白质氮含量和空白对照,平行测定 6 次,计算蛋白质含氮占辣椒碱含氮量比值。结果见表 1,蛋白质含氮量约占辣椒碱含氮量的 1~1.6%。

表 1 氮含量测定结果

组序号	1	2	3	4	5	6
总氮量消耗盐酸 (V_1 , mL)	1.93	1.95	1.94	1.95	1.94	1.95
空白消耗盐酸 (V_2 , mL)	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
非蛋白质氮消耗盐酸 (V_3 , mL)	1.89	1.90	1.90	1.90	1.90	1.90
蛋白质消耗盐酸 (V_3 , mL)	0.02	0.03	0.02	0.03	0.02	0.03
蛋白质含氮占辣椒碱含氮量比值 (V_3/V_1 , %)	1.06	1.58	1.05	1.58	1.05	1.58

2.7 精密度试验 按上述辣椒碱含量测定方法,重复测定 5 次辣椒碱含量(批号 20071201),结果分别为 0.26 g/100 mL、0.25 g/100 mL、0.25 g/100 mL、0.25 g/100 mL、0.25 g/100 mL,显示精密度较好, RSD 为 1.77%。

2.8 回收率试验 鱼藤酮辣椒碱悬浮剂样品中加入 Sigma 公司辣椒碱对照品,辣椒碱含量测定方法测定,得加样回收率见表 2。

表 2 鱼藤酮 辣椒碱悬浮剂回收率结果

序号	样品量 (mg)	加入对照品量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 R (%)	RSD (%)
1	2.60	2.01	4.6646	102.72		
2	2.60	2.01	4.6053	99.77		
3	2.60	2.51	5.1010	99.64	100.67	1.65
4	2.60	2.51	5.1638	102.14		
5	2.60	3.02	5.5720	98.41		
6	2.60	3.02	5.6613	101.37		

2.9 鱼藤酮 辣椒碱中辣椒碱含量测定 精密吸取鱼藤酮 辣椒碱悬浮剂样品适量,按定氮法测定辣椒碱含量,三个批号辣椒碱含量为 100.99%、102.98%、102.42%。

3 讨论

定氮法测定鱼藤酮 辣椒碱悬浮剂中辣椒碱含量的主要干扰物质是植物源蛋白质。从鱼藤酮 辣椒碱悬浮剂中蛋白质含量测定结果来看,蛋白质

含氮量约占辣椒碱含氮量的 1% ~ 1.6%。辣椒碱的分子量是 305.4,氮的分子量是 14,含氮量约为 4.6%,而植物蛋白质的含氮量约 15% ~ 16%^[5],因此同样含氮量辣椒碱的质量是蛋白质的 3 ~ 4 倍,实际蛋白质的质量相比于辣椒碱质量小于 0.5%。本检测方法比较简便,作为半微量分析是可行的,在实践中可以作为辣椒碱含量的测定方法。

参考文献:

- [1] 赵善欢,黄彰欣. 安全高效的鱼藤杀虫剂 [J]. 植物保护, 1988, 14 (1): 44.
- [2] 莫美华,黄彰欣. 鱼藤酮及其混剂对蔬菜害虫的毒效研究 [J]. 华南农业大学学报, 1994, (154): 58
- [3] GB/T5009.5 - 2003 食品中蛋白质的测定 [S]. 国家标准 .
- [4] GB608 - 88 氮测定通用方法 [S]. 国家标准 .
- [5] 植物生理实验技术 [M]. 哈尔滨出版社, 2002: 154.

收稿日期: 2008-05-19

(上接第 32 页)

利用柱层析方法分离纯化 (R)-9-[2-二乙基膦酰甲氧基丙基]腺嘌呤 (8) 时, 收率偏低, 这可能是由于该化合物含有氨基, 极性较大被硅胶吸附所致。可尝试在洗脱剂中加入 TEA 以降低硅胶吸附程度, 提高分离收率。后采用少量水多次洗涤的方式。文献^[6]为防止产物的损失, 不经后处理直接投料下一步, 但实验发现, 反应很不稳定, 可能是由于杂质过多的原因。摸索后发现, 可以采用多次少量蒸馏水洗涤的方式, 以除去残余的 DMF, 以 3 次为宜, 可使 (R)-9-[2-二乙基膦酰甲氧基丙基]腺嘌呤以较高的纯度直接投料反应生成 PMPA, 且水相可循环套用, 避免了过柱损失, 使得 PMPA 提高了 10% 的收率。

为了考察酸性对 PMPA 结晶的影响, 我们测定了不同 pH 值的收率, 发现当 pH = 3 时, 产率达到最大值。pH 值对产率的影响结果见表 1。

表 1 pH 值对 PMPA 结晶的收率影响

pH 值	收率 %
2.5	70.8
3	88.0
3.5	72.5

3 结论

用 S 缩水甘油合成 R 碳酸丙烯酯, 与腺嘌呤反应得到 (R)-9-(2-羟丙基)腺嘌呤, 在叔丁醇钠作用下与以亚磷酸二乙酯和多聚甲醛为原料经缩合、酯化反应合成的活泼中间体对甲苯磺酸羟甲基磷酸二乙酯反应, 经缩合, 水解等合成抗病毒药物替诺福韦。本文对原工艺进行了优化, 从而降低了成本, 简化操作, 目标化合物的收率比文献提高 10%, 且经过放大实验, 更适合工业生产。

参考文献:

- [1] 崔 岚, 安富荣, 王晓珉. 核苷酸逆转录酶抑制剂替诺福韦 DF [J]. 中国新药杂志, 2004, 13 (11): 1054.
- [2] Lacombe K, Gozlan J, Boelle PY, et al Long-term hepatitis B virus dynamics in HIV-hepatitis B virus-coinfected patients treated with tenofovir disoproxil fumarate [J]. AIDS, 2005, 19 (9): 907.
- [3] Van BF, Wunsche T, Mauss S, et al Comparison of adefovir and tenofovir in the treatment of lamivudine-resistant hepatitis B virus infection [J]. Hepatology, 2004, 40 (6): 1421.
- [4] Sorbera LA, Castaner J. (R)-MPMA and Bis(POC)MPMA [J]. Drugs Fut, 1998, 23 (12): 1279.
- [5] Holy A, Dvorakova H, DeClercq E, et al Antiretroviral enantiomeric nucleotide analogs [P]. WO 9403467.
- [6] Schultze LM, Chapman HH, Dubree NJP, et al Practical synthesis of the anti-HIV drug, PMPA [J]. Tetrahedron Lett, 1998, 39 (14): 1853.

收稿日期: 2008-09-25