

槟榔碱提取及分析方法研究进展

潘 虹

(遵义医学院,贵州 遵义 563099)

摘要: 槟榔碱是槟榔中的主要生物碱之一,有着诸多药理作用及毒副作用。准确测定槟榔中槟榔碱的含量对于槟榔及其制剂的质量控制十分重要。介绍从槟榔中提取槟榔碱的现行标准方法——回流提取法和文献报道的主要方法—超声提取法、超临界 CO₂ 流体提取法和亚临界水提取法,并介绍槟榔碱含量测定的药典规定方法—高效液相色谱法和文献报道的化学滴定法、毛细管电泳法、薄层色谱法、分光光度法和液相色谱质谱联用技术。通过综述各方法的原理和代表性分析条件,简要比较各种方法的优缺点,以期为提升槟榔碱的检测标准提供参考。

关键词: 槟榔; 槟榔碱; 提取法; 分析方法; 含量测定

中图分类号:R284.2 文献标识码:A 文章编号:1673-2197(2019)04-0188-04

DOI:10.11954/ytctyy.201904062

槟榔(Areca nut)为榈科植物槟榔(Areca catechu L.)的干燥成熟果实,是继烟草、酒精和咖啡因之后的世界四大嗜好品之一,特别流行于南亚和东南亚地区,如印度、马来西亚,以及国内的湖南、海南、台湾等地区^[1],全世界有超过 6 亿槟榔癖好者。尽管研究发现咀嚼槟榔具有抗寄生虫、抗抑郁、抗疲劳、抗氧化、抗菌以及抗高血压等药理作用^[2],但是也有文献报道咀嚼槟榔与肝硬化、口腔黏膜下纤维化和其他毒理学效应的发生具有密切关系^[2]。国际癌症研究协会(The International Association of Research on Cancer,

IARC)在 2004 年已将槟榔列为人类致癌物^[3]。槟榔碱是槟榔中主要的生物碱类活性成分,也是主要的毒性成分^[4],因此在含槟榔制剂的质量控制或食用槟榔后在生物基质中准确定性和定量分析槟榔碱都是非常必要的,是对槟榔进行进一步药效和毒性研究的基础。随着分析技术的迅猛发展,从槟榔中提取槟榔碱的方法和测定槟榔碱含量的方法也日益增多。本研究主要介绍槟榔碱提取方法和测定槟榔碱含量的国内外标准和文献方法,希望为槟榔的质量控制和评价提供参考。

- [21] 李灿东,俞洁,甘慧娟,等.健康状态辨识研究应重视的几个问题[J].中华中医药杂志,2011,26(9):2024-2027.
- [22] 施健,刘苏,谢渭芬.我国胆石症发病危险因素的 Meta 分析[J].胃肠病学,2005,10(4):217-222.
- [23] 王苑,许洪伟.我国胆石症危险因素的 Meta 分析[J].中华肝脏外科杂志,2016,22(6):386-390.
- [24] 匡调元.体质病理学研究[J].成都中医学院学报,1978,1(2).
- [25] 郑东海,郑伟鸿,郑东京,等.郑伟达教授治疗胆石症经验探析[J].世界中西医结合杂志,2013,8(9):870-871.
- [26] 邱丽英,邓科穗,项凤梅,等.胆石症患者中医体质与相关指标的关系[J].南昌大学学报(医学版),2010,50(12):35-37.
- [27] 伊西磊,郭吕.120 例胆石症患者中医体质辨证调查与分析[J].现代中西医结合杂志,2013,22(4):382-383.
- [28] 高萍.胆石症中医诊疗的体会[J].现代中医药,2002(6):30-31.
- [29] 张冬梅,陈飞虎.饮食因素与中年妇女胆石症关系的探讨[J].安徽医科大学学报,2002,37(4):276-277.

- [30] 李军祥,陈詒,梁健.胆石症中西医结合诊疗共识意见(2017 年)[J].中国中西医结合消化杂志,2018(2):132-138.
- [31] 张文衡.治疗胆囊炎胆结石病的中医辨治[J].现代日用科学,1997(4):9-9.
- [32] 孙方军.胆结石成因及证治规律探讨:附 206 例分析[J].山东中医药学院学报,1989,13(3):13-16.
- [33] 刘清林.中医辨证治疗胆囊炎胆结石经验浅谈[J].内蒙古中医药,2007,26(1):15-15.
- [34] 宣桂娥,王建国.中药治疗胆石症难点问题与对策的临床研究[J].中国自然医学杂志,2000,2(2):101-102.
- [35] 李咏梅.胆结石、胆囊炎中医辨证施治[J].卫生职业教育,2005,23(17):145-145.
- [36] 李佃贵,赵军艳.胆结石中医治疗三法[J].陕西中医,2003,24(7):661-662.
- [37] 梁平.浅谈胆囊炎、胆结石的中医诊治体会[J].内蒙古中医药,2012,31(3):33-34.

(编辑:宋勇刚)

收稿日期:2018-07-22

基金项目:贵州省中医药管理局中医药、民族医药科学技术研究课题(QZYY-2015-154)

作者简介:潘虹(1989—),女,硕士,遵义医学院讲师,研究方向为体内药物分析和药物代谢动力学。

1 提取方法

1.1 加热回流提取法

加热回流提取法(heating reflux extraction)是使用水或乙醇等有机溶剂从天然植物中提取活性成分的传统方法,具有设备简单、操作简便和能耗低等优点,但是需要消耗大量有机溶剂,且一般需6~8h才能提取完全,也不适合用于热不稳定化合物的提取。加热回流提取法通常是通过正交试验法优化提取溶剂、提取时间、提取次数以及提取温度,获得目标产物的最佳得率。罗士数等^[5]通过加热回流提取法萃取槟榔中的槟榔碱,以乙醇作为提取溶剂,以L₉(3⁴)正交试验优化提取温度、次数、时间和料液比,结果当提取溶剂是乙醇(85%,v/v)、提取温度为85℃、料液比1:14(g/mL)、提取次数3次,每次提取1h时,槟榔碱的得率最高。另外,还将提取液碱化至pH=8,呈弱碱性的提取液一方面使得与槟榔中鞣酸结合的槟榔碱游离出来,同时避免了槟榔碱在强碱性条件下被水解,此时的槟榔碱得率为(0.251±0.03)%。

1.2 超声波提取法

超声波提取法(ultrasound assisted extraction, UAE)与传统的加热回流相比,仪器中的超声波能够增加提取液与提取溶剂的接触面积,加快提取液中分子运动速率,并利用空化作用使细胞壁破裂^[6],从而提高了提取效率。罗士数等^[7]运用超声辅助加热回流提取法从槟榔中提取槟榔碱,与其同课题组优化的传统方法相比^[5],在40kHz超声波频率和300W超声功率条件下,料液比减少42.8%,提取温度从85℃下降至83℃,提取时间从1h减少为20min,而提取率基本能够达到传统方法的得率(0.1987%),说明超声波提取法能够在一定程度上提高提取效率,减少时间和经济成本。

1.3 亚临界水提取法

亚临界水提取法(subcritical water extraction, SCWE)是近年来新发展起来的绿色萃取方法。由于水在不同温度和压力下会呈现不同的极性,可以通过控制温度和压力人为改变其极性,使得天然植物中的水溶性或脂溶性活性成分被连续萃取出来^[8]。由于在整个提取过程中都不使用酸、碱等催化剂或有机溶剂,因此此项技术既绿色环保又经济实用。康丽如等^[9]采用SCWE法对槟榔中的槟榔碱进行萃取,优化出的最佳工艺为提取时间43min,料液比35:1,提取温度144℃,结果表明在此条件下,槟榔碱的提取率为0.425%,高于超声波提取法。

1.4 超临界CO₂流体萃取

超临界CO₂流体萃取(supercritical CO₂ extraction, SFE)与SCWE技术类似,都是通过改变超临界流体CO₂的压力和温度来改变其溶解能力,当处于不同压力和温度条件下的超临界CO₂流体与混合成分中不同沸点、极性和分子量的物质接触时,就能够选择性地将其目标成分萃取出来^[10],此方法在整个萃取过程不消耗有机溶剂,较为环保,特别适合于提高极复杂成分的萃取效率。张春江等^[11]采用SFE法萃取槟榔中的槟榔碱,并优化了萃取温度、时间和压力等条件,还在研究中添加了氨水作为碱化剂来使与酸性

成分结合的槟榔碱游离出来,并使用了改进剂(乙醇)来改善萃取效果,在72℃、57MPa下萃取26min,槟榔碱得率为(25.85±0.41)%。

2 分析方法

2.1 滴定法

滴定法(titration)是传统的化学分析方法,其基本原理是将标定好的已知浓度的滴定液逐滴加入到未知浓度的溶液中,直到加入的滴定液的量与未知物化学反应完全为止,根据所消耗的滴定液的体积和浓度,得出待测物的浓度。通常是利用添加在未知溶液中的指示剂或溶液本身的颜色变化来判断滴定终点。刘蕊等^[12,13]采用两步滴定法测定槟榔碱的含量,即首先加入硫酸滴定剂,再加入氢氧化钠滴定剂进行滴定;刘蕊等通过滴定法考察了槟榔花果中槟榔碱含量随着时间发生变化的过程,以及在槟榔果制备过程中,烘干温度与时间对槟榔碱的含量影响。但是滴定法本身存在专属性低、检测限高和误差大的缺点。

2.2 分光光度法

分光光度法(spectrophotometry)基本原理是测定待测物质在某一个特定波长处(或波长范围内)产生的吸光度,此吸光度在一定范围内与待测物质的浓度成正比。高敏等^[14]采用可见光分光光度法测定槟榔中槟榔碱的含量,其原理是槟榔碱会和溴甲酚绿形成离子对,用氯仿萃取,最后再往氯仿层加入碱性溶液,溴甲酚绿就会重新游离出来,再在可见光618nm波长下测其吸光度,此方法最低定量下限为19.5μg/mL。分光光度法操作简便,仪器比较常见,但是灵敏度较低,不能满足槟榔碱的痕量分析。

2.3 色谱法

当流动相流经固定相时,待测混合物会在两相之间进行分配,利用不同成分的分配性质不同,其迁移速度也就不相同,最终达到分离的效果,此法称为色谱法(chromatography)。目前,色谱法在医药学和化工领域已被广泛应用,仪器普及度较高,操作越来越智能化,同时具有高灵敏度、高通量、用样量少、准确性和重复性好的优点。

2.3.1 薄层色谱扫描法 薄层色谱扫描法(thin layer chromatography, TLC)是将待测物及其对照品在薄层板上点样,用流动相展开后,对比它们的比移值,主要适用于化学成分的鉴别和杂质检查。2015版中国药典一部中就采用了TLC法进行槟榔药材和饮片的鉴别^[15]:采用硅胶G薄层板,展开剂为环己烷—乙酸乙酯—浓氨试液(7.5:7.5:0.2),展开缸预先用氨蒸汽饱和,经过展开后,取出薄层板,再放置在碘蒸气中熏至斑点清晰。卢英翠和林励等^[16-17]还建立了TLC测定槟榔中槟榔碱含量的测定方法。

2.3.2 毛细管电泳法 毛细管电泳(capillary electrophoresis, CE)是一类新型液相分离技术,已普遍应用于医药分析中,其原理是以毛细管为分离通道,再加上高压电场,是一种利用复杂样品中各组分因迁移率不同而达到分离作用的分析方法^[18],具有灵敏度高、用样量少的优点。袁炜^[19]建立了CE法测定槟榔中槟榔碱和槟榔次碱的含量,此方法不仅优化出了合适的电解质溶液(pH=3.2的25mmol/L

磷酸-25mmol/L 酸二氢钠缓冲溶液),成功使槟榔碱和槟榔次碱达到色谱分离,还优化出了最佳分析条件:工作温度29℃,电压20kV,虹吸进样20s,检测波长为185nm,最低定量下限均为2μg/mL。也有国外文献^[20,21]报道了使用CE法测定槟榔碱的含量,此方法能够在1min之内完成对槟榔碱的检测,槟榔碱在20~1500μM范围内线性关系良好。

微流控芯片(Microfluidicchip)非接触电导法是在CE基础上发展起来的一种分析方法,此法将样品制备、分离和检测等各项技术集成到一块芯片上,实现了一体化技术平台,被认为是当今分析方法的前沿技术之一。杨秀娟等^[22]采用此方法测定槟榔饮片中的槟榔碱含量,采用的分析条件为:以2mmol·L⁻¹醋酸+2mmol·L⁻¹醋酸钠(pH=4.7)作为缓冲溶液,分离电压2.5kV,进样时间10s,结果槟榔碱在10~200μg·mL⁻¹浓度范围内线性关系良好。

2.3.3 高效液相色谱法 高效液相色谱法(High performance liquid chromatography, HPLC)主要用于多成分复杂混合物的分离和分析,80%左右的化合物都可以使用此方法进行含量测定,应用范围十分广泛,分离效率高。2015版中国药典一部记载使用高效液相色谱法对槟榔进行质量控制,并以槟榔碱的含量作为质量控制与评价的指标^[15],方法是采用强阳离子交换键合硅胶色谱柱,流动相为乙腈-磷酸溶液(2→1000,pH值调至3.8)(55:45),在紫外波长为215nm处检测槟榔碱的含量。孔兰芬等^[23]建立了超高效液相色谱法测定槟榔提取液中槟榔的含量,分析条件为:C₁₈色谱柱,乙腈-甲醇-0.1%冰醋酸溶液(25:20:55)为流动相,梯度洗脱,检测波长为215nm,最低定量下限为0.013mg/mL。COX等^[24]采用HPLC法测定人唾液中槟榔碱的含量,检测波长为215nm。陈浩桉等^[25]采用阳离子型(SCX)高效液相色谱柱,流动相为乙腈-磷酸(氨调pH至3.8)(60:40),槟榔碱在0.05~0.30mg/mL范围内成线性。除此之外,国内外也有较多文献^[26~31]记载了使用HPLC法测定槟榔碱的含量。HPLC法与滴定法、分光光度法和薄层法等相比,灵敏度更高、精密度和重复性更好,已成为槟榔碱含量测定的最常用方法之一。但是由于槟榔碱结构缺乏共轭基团,紫外吸收较弱,所以此方法的灵敏度还有待提高。

2.3.4 液相色谱质谱联用技术 随着质谱技术的飞速发展,液相色谱-质谱联用技术(liquid chromatography-mass spectrography, LC/MS)在医药领域的应用日益广泛,已成为当今医药学和化工领域中最有力的分析工具之一。笔者课题组就在前期研究中建立了LC-MS/MS法测定大鼠血浆中槟榔碱的浓度^[32],采用C₁₈色谱柱,选择甲醇-水(含0.1%甲酸)(5:95)作为流动相,监测离子对为156.2→53.2(槟榔碱)和256.1→152.1(内标更昔洛韦),结果发现大鼠血浆中槟榔碱在1~1000ng/mL浓度范围内成线性,此方法大大提高了分析灵敏度;在研究中还发现槟榔碱由于含有羧酸酯键,在大鼠体内会被高表达的羧酸酯酶水解生成槟榔次碱,造成了其体内暴露量的低下。HU等^[33]采用LC-MS法测定了人咀嚼槟榔后包括槟榔碱在内的5个代谢物的含量。FENG等^[34]采用基质辅助激光解吸飞行时间质谱

仪测定槟榔中槟榔碱等小分子化合物的含量。同时,也有较多国外文献^[35~40]报道了采用LC-MS法测定比格犬血浆、槟榔、人唾液、头发、乳汁以及含槟榔中药制剂中槟榔碱的含量。研究结果均表明采用LC-MS法测定槟榔碱的含量重复性好、准确度高、专属性好、灵敏度高,十分适合槟榔碱的痕量测定,特别适合于体内槟榔碱的浓度测定。

3 结语

总的来说,槟榔碱的几种提取方法各有优缺点,建议实验者在有条件的情况下采用更加绿色环保安全的提取方法。就槟榔碱的分析方法而言,滴定法技术成熟,操作简单,成本较低,但是专属性较差,且槟榔提取物中含有许多生物碱成分,会极大干扰槟榔碱的准确测定,一般情况下,不建议使用该法;分光光度法、毛细管电泳法等也具有较为独特的优缺点,可根据实验条件进行选择;而高效液相色谱法作为2015版中国药典收录的对于槟榔药材及其饮片含量测定的标准方法具有高效、灵敏度高和选择性好等特点;而LC-MS法的灵敏度以及专属性则比高效液相色谱法更高,已成为测定生物基质或非生物基质中槟榔碱含量的最强有力的分析方法。

参考文献:

- [1] GUPTA PC, WARNAKULASURIYA S. Global epidemiology of areca nut usage[J]. Addict Biol, 2002, 7(1):77-83.
- [2] W PENG, Y J LIU, N WU, et al. Areca catechu L. (Areceaceae): a review of its traditional uses, botany, phytochemistry, pharmacology and toxicology[J]. J Ethnopharmacol, 2015, 164:340-356.
- [3] IARC, Betel-quid and areca-nut chewing and some areca-nut derived nitrosamines, IARC Monogr. Eval. Carcinogen[J]. Risks Hum, 2004, 85:1-334.
- [4] LIU YJ, PENG W, HU MB, et al. The pharmacology, toxicology and potential applications of arecoline: a review[J]. Pharm Biol, 2016, 54(11):2753-2760.
- [5] 罗士数,张海德,朱莉,等.槟榔中槟榔碱的乙醇回流提取工艺研究[J].食品科学,2010,31(20):106-110.
- [6] 王笃政,于娜娜.微波-超声波协同萃取技术在中药有效成分提取中的研究进展[J].化工中间体,2011,8(5):5-9.
- [7] 罗士数,张海德,李国胜,等.槟榔中槟榔碱的超声波提取工艺研究[J].食品科技,2010,35(8):240-243.
- [8] 李振梅,黎继烈,肖志红,等.亚临界水萃取技术在植物油料中的应用研究进展[J].中国油脂,2016,41(10):19-23.
- [9] 康丽如,符素芳,曾广琳,等.响应面法优化亚临界水提取槟榔籽中槟榔碱的工艺研究[J].食品安全质量检测学报,2016,7(9):3773-3780.
- [10] 许丽娟,柏连阳,欧阳建文.超临界流体萃取技术及其在农药残留分析研究中的应用[J].现代农药,2006(5):13-16.
- [11] 张春江,陶海腾,吕飞杰,等.超临界CO₂流体萃取槟榔中的槟榔碱[J].农业工程学报,2008(6):250-253.
- [12] 刘蕊,郑俊毫.烘干温度与时间对槟榔中槟榔碱含量的影响[J].现代农业科技,2014(7):291-292.
- [13] 刘蕊.槟榔花果中槟榔碱含量的时空变化[J].江西农业学报,2014,26(6):54-55,58.
- [14] 高敏,高淑芹.光度法测定槟榔中槟榔碱的含量[J].化学分析计量,2003(1):28-30.
- [15] 国家药典委员会.中华人民共和国药典[M].1版.北京:化

- 学工业出版社,2015:365.
- [16] 卢英翠,李逢春,郑青山.薄层扫描法测定槟榔中槟榔碱的含量[J].山东医药工业,2002(4):17.
- [17] 林励,徐鸿华,邓沛峰,等.槟榔中槟榔碱含量的薄层扫描测定[J].中国中药杂志,1992(8):491-492,512.
- [18] 袁倬斌,尚小玉,张君.毛细管电泳及其在环境分析中的应用进展[J].岩矿测试,2003(2):144-150.
- [19] 袁炜,吕建德,傅小芸.槟榔中槟榔碱和槟榔次碱的毛细管电泳分析[J].分析化学,2000(6):749-752.
- [20] CAI ZY, LI YC, LI LH, et al. Analysis of arecoline in Semen Arecae decoction pieces by microchip capillary electrophoresis with contactless conductivity detection[J]. J Pharm Anal, 2012, 2:356-360.
- [21] XIANG Q, GAO Y, HAN B, et al. Determination of arecoline in areca nut based on field amplification in capillary electrophoresis coupled with electrochemiluminescence detection[J]. Luminescence, 2013, 28:50-55.
- [22] 杨秀娟,陈缵光,刘艳清.槟榔中槟榔碱含量的微流控芯片非接触电导法测定[J].时珍国医国药,2015,26(6):1327-1329.
- [23] 孔兰芬,杨式华,杨盼盼,等.UPLC 法测定槟榔提取液中的槟榔碱含量[J].安徽农业科学,2018(8):177-178,190.
- [24] COX S, PIATKOV I, VICKERS ER, et al. High-performance liquid chromatographic determination of arecoline in human saliva[J]. J Chromatogr A, 2004, 1032(1-2):93-95.
- [25] 陈浩桉,赖宇红,王晓钰,等.高效阳离子交换色谱法测定槟榔中槟榔碱的含量[J].中药材,2002(1):27-28.
- [26] 周军,陈飞,曲佳,等.HPLC 法测定越鞠保和丸中槟榔碱的含量[J].天津药学,2017,29(5):26,27.
- [27] 李汴生,顾伟樑,阮征.烫漂和烘干过程对槟榔中槟榔碱含量的影响[J].食品与发酵工业,2017,43(10):157-160.
- [28] 周丹,刘启兵,刘月丽,等.海南槟榔提取物中多酚和槟榔碱的含量测定[J].海南医学院学报,2016,22(19):2224-2227.
- [29] 蔡拓,陈翠梅,刑协森,等.离子对 RP-HPLC 法检测肝匀浆中的槟榔碱[J].毒理学杂志,2011,25(1):48-50.
- [30] 陈莹,郭伟英.反相离子对色谱法测定木香槟榔丸中氢溴酸槟榔碱的含量[J].中国药房,2011,22(8):753-755.
- [31] 杨春,苏少忠,徐杏云,等.RP-HPLC 法测定胃通颗粒中槟榔碱的含量[J].中国中药杂志,2003(5):79-80.
- [32] PAN H, HUANG L, LI Y, et al. Liquid chromatography-tandem mass spectrometric assay for determination of unstable arecoline in rat plasma and its application[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2017, 1070:112-116.
- [33] HU CW, CHANG YZ, WANG HW, et al. High-Throughput Simultaneous Analysis of Five Urinary Metabolites of Areca Nut and Tobacco Alkaloids by Isotope-Dilution Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry with On-Line Solid-Phase Extraction [J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2010, 19(10):2570-2581.
- [34] FENG CH, LU CY. A new matrix for analyzing low molecular mass compounds and its application for determination of carcinogenic areca alkaloids by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry [J]. Anal Chim Acta, 2009, 649:230-235.
- [35] LI B, ZHOU XZ, LI JY, et al. Determination and pharmacokinetic studies of arecoline in dog plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2014, 969:12-18.
- [36] JAIN V, GARG A, PARASCANDOLA M, et al. Analysis of Alkaloids in Areca Nut-Containing Products by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry[J]. J Agric Food Chem, 2017, 65:1977-1983.
- [37] LEE HH, CHEN LY, WANG HL, et al. Quantification of Salivary Arecoline, Arecaidine and N-Methylnicotinic Acid Levels in Volunteers by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry[J]. J Anal Toxicol, 2015, 39:714-719.
- [38] YI YN, CHENG XM, LIU LA, et al. Simultaneous determination of synephrine, arecoline, and norisoboldine in Chinese patent medicine Si-Mo-Tang oral liquid preparation by strong cation exchange high performance liquid chromatography[J]. Pharm Biol, 2012, 50:832-838.
- [39] MARCHEI E, DURGBANSHI A, ROSSI SE, et al. Determination of arecoline (areca nut alkaloid) and nicotine in hair by high-performance liquid chromatography/electrospray quadrupole mass spectrometry [J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2005, 19:3416-3418.
- [40] PELLEGRINI M, MARCHEI E, ROSSI SM, et al. Liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry assay for determination of nicotine and metabolites, caffeine and arecoline in breast milk[J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 2007, 21:2693-2703.

(编辑:陈湧涛)

Research Progress of Content Determination and Extraction Methods of Arecoline

Pan Hong

(遵义医科大学,遵义 563099, 中国)

Abstract: Arecoline is one of major alkaloid in areca nut, also the primary active and toxic constituent. It is essential to quantify the content of arecoline to study the quality control and evaluation of areca nut. In this paper, the current standard method in pharmacopoeia and methods reported in literatures for arecoline extraction were introduced, including heating reflux extraction, ultrasound assisted extraction, subcritical water extraction and supercritical CO_2 extraction. Further more, those of arecoline content determination were introduced in the aspect of principles and the operating procedures, including the titration, spectrophotometry and chromatographic methods. The advantages and disadvantages of each method were also compared and analyzed. The results would help to upgrade standard of arecoline content determination.

Keywords: Arecoline; Extraction; Analytical Methods; Concentration Determination