

## HPLC法测定烟草中的维生素C

谢卫 刘江生 赖伟玲 刘泽春 蔡国华 林艳

(福建龙岩卷烟厂技术中心, 龙岩 364021)

**摘要:** 用反相液相色谱法测定烟草中维生素C的含量。采用Nova-PakC18 (150mm×3.9mmi. d.) 色谱柱, 二极管阵列检测器 (PDA), 流动相为0.025mol/L磷酸二氢钾: 乙腈 (1: 1), 在254nm波长下检测。加标回收率为: 98.42%。相对标准偏差2.3%。该法准确, 灵敏、快速。

**关键词:** 高效液相色谱法 烟草 维生素C

### 1 引言

维生素C是烟草中的一种微量成分, 它能够影响香气, 能减少烟碱、焦油的不利影响, 有解毒作用, 有益健康<sup>[1]</sup>。不同类型、不同产地、不同部位的烟草, 其维生素C的含量大小不同, 导致了烟草品质间的差异性。随着市场对卷烟产品质量要求的不断提高, 建立烟草中维生素C的测定方法, 对烟草生产、改善卷烟配方和吸烟与健康的研究具有实际意义。目前, 烟草中维生素C的测定方法主要有分光光度法<sup>[2]</sup>、酶法<sup>[3]</sup>、化学发光<sup>[4]</sup>和荧光<sup>[5]</sup>法。本文采用C<sub>18</sub>色谱柱, 磷酸二氢钾-乙腈作流动相、二极管阵列检测器, 实现了烟草中维生素C测定。方法准确、简便、快速, 具有较强的实用性。

### 2 实验部分

#### 2.1 仪器与试剂

Waters 2695 Alliance高效液相色谱系统, 四元梯度泵, Empower色谱工作站 (美国Waters公司); 2996 PDA检测器 (美国Waters公司); Milli-Q超纯水处理器 (美国Millipore公司); Sep-pak-C18固相萃取小柱 (美国Waters公司)。

维生素C (Sigma公司); 纯度大于99%。乙腈为色谱纯试剂 (Tedia公司)。水为超纯水, 电阻值大于18MΩ。

配制质量浓度为5g/L的维生素C的标准储备水溶液, 使用前用水稀释成20mg/L~2000mg/L的工作溶液。

#### 2.2 色谱条件

分析柱Nova-PakC<sub>18</sub> (150mm×3.9mmi. d.), Waters公司产品。

流动相为磷酸二氢钾: 乙腈=50: 50, 流速为1.0mL/min; 柱温为25℃; 进样量10μL; 检测波长254nm, 选用外标法进行定量测定。

#### 2.3 样品处理

称取40~60目的烟草样品1g, 准确至0.0001g, 加入50mL的2%草酸溶液, 超声波作用下浸提40min, 温度30℃。取5mL溶液以10mL/min的流速通过预活化好的Sep-pak-C18固相萃取小柱, 弃去最初的2mL, 收集后面的3mL, 再用0.45μm的水系滤膜过滤, 滤液供分析用。

### 3 结果与讨论

#### 3.1 色谱柱的选择

维生素C易溶于水, 故采用反相色谱柱较好。

#### 3.2 检测波长的选择

维生素C在254nm处有较强吸收, 因此选择254nm作检测波长。

#### 3.3 流动相的选择

考察不同比例的乙腈水溶液 (100、90、80、70、60和50%) 作为流动相的情况, 发现乙腈在流动相中比例

增大，可有效改善色谱峰形，但有机相比例增加不利于维生素C的溶解，分析时间也显著延长。本文选择磷酸二氢钾-乙腈（50：50，V/V）的体系作为流动相。标样及卷烟烟丝样品的色谱图见图1、图2所示。

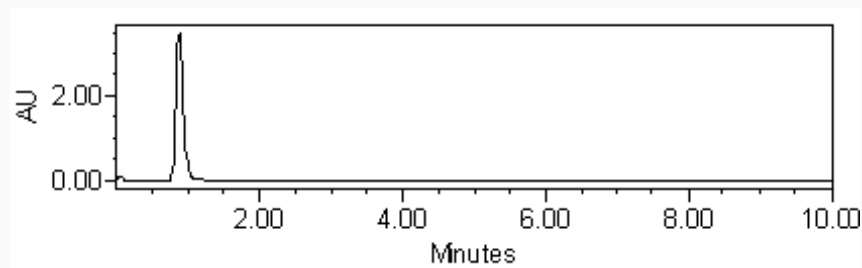


图1 标样的色谱图

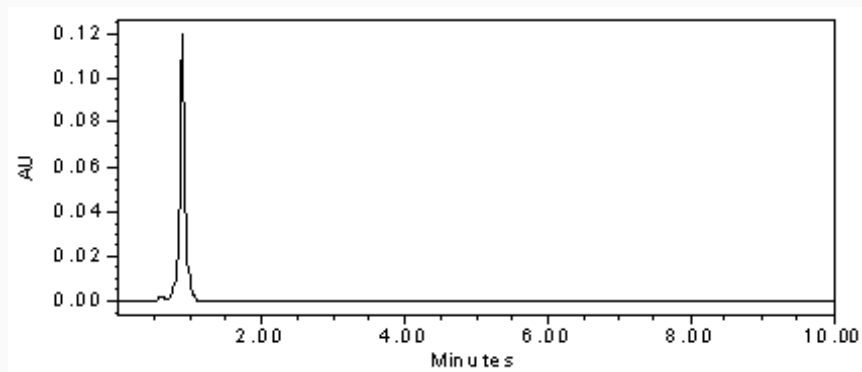


图2 样品的色谱图

### 3.4 线性范围与检出限

将浓度为20mg/L、40mg/L、80mg/L、120mg/L、160mg/L、200mg/L、400mg/L、800mg/L、1200mg/L、1600mg/L、2000mg/L的各系列标准维生素C溶液，在测定条件下进样10 $\mu$ L，对应维生素C的绝对量为0.2 $\mu$ g、0.4 $\mu$ g、0.8 $\mu$ g、1.2 $\mu$ g、1.6 $\mu$ g、2.0 $\mu$ g、4.0 $\mu$ g、8.0 $\mu$ g、12.0 $\mu$ g、16.0 $\mu$ g、20.0 $\mu$ g。根据测得的峰面积A对应维生素C的浓度C进行线性回归，得回归方程为： $y=82913.48x+3261.68$ ， $r=0.9993$ 。

### 3.5 回收率与精密度

卷烟烟丝F样品按2.3方法处理，在选定的色谱条件下平行测定5次，计算回收率及相对标准偏差（RSD）结果。见表1所示。

表1 方法回收率（n=5）

组分	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 %	RSD %
维生素C	0.50	0.49	98.42	2.30

### 3.6 样品的测定

分别测定了六个不同产地、不同等级的烟叶，结果见表2：

表2 烟叶中维生素C的分析结果（n=5） 单位：mg/g

样品	维生素C
烟叶 A	15.73
烟叶 B	15.33
烟丝 C	16.50
烟丝 D	14.18
烟丝 E	15.72
烟丝 F	15.10

### 3.7 结论

采用Nova-PakC18柱、乙腈和磷酸二氢钾作流动相,二极管阵列检测器,建立了烟草中维生素C测定方法。方法准确可靠,重现性好,回收率满意,可用于烟草及其制品中维生素C含量的质量分析,具有实用价值。

#### 参考文献

- [1] 徐淑芬, 史芝文, 白宝璋, 等. 烟草栽培与病害防治[M]. 黑龙江: 黑龙江人民出版社, 1995. 1-144
- [2] Jain A, Chaurasia A, Verma K K. Determinations of ascorbic acid in soft drinks, preserved fruit juices and pharmaceuticals by flow injection spectrophotometry: matrix absorbance correction by treatment with sodium hydroxide[J]. Talanta, 1995, 42:779.
- [3] Huang H P, Cai R X, Du Y M, Zeng Y E. Flow-injection stopped-flow spectrofluorimetric kinetic determination of total ascorbic acid based on an enzyme-linked coupled reaction[J]. Anal. China. Acta, 1995, 309:271.
- [4] Alwarthan A A. Determination of ascorbic acid by flow injection with chemiluminescence detection[J]. Analyst, 1993, 118:639.
- [5] Ensafi A A, Rezaei B. Flow injection analysis determination of ascorbic acid with spectrofluorimetric detection [J]. Anal. Letts., 1998, 31:333.
- [6] Yang W, Ming Y. D. Analysis of carbohydrates in drinks by high-performance liquid chromatography with a dynamically modified amino column and evaporative light scattering detection. Journal of Chromatography A. 2000, 904:113~117

#### *Analysis of vitamin C in tobacco by high-performance liquid chromatography*

Xie Wei, Liu Jiangsheng, Lai Weiling, Liu Zechun, Cai Guohua, Lin Yan  
(Technology Center of Longyan Cigarette Factory, Longyan364000, Fujian)

**Abstract:** Vitamin C in tobacco was quantitatively determined by HPLC with Nova-Pak C18 (4 $\mu$ m, 150mm $\times$ 3.9mm i.d.) column, a mixture of acetonitrile-monopotassium phosphate (50:50, V/V) as mobile phase and UV detection at 254 nm. The average recover was 99.42%, RSD was 2.3%. The method is rapid, simple, accurate and reproducible.

**Keywords:** high-performance liquid chromatography tobacco vitamin C