

# LC-15C 测定烟用香精中马兜铃酸 A 的含量

LC-138

**摘要:** 本文建立了一种使用岛津 LC-15C 系统测定烟用香精中马兜铃酸 A 含量的方法。样品经萃取溶剂振荡提取后,离心分离、过滤上机检测。使用外标法绘制马兜铃酸 A 的校准曲线,校准曲线的相关系数在 0.999 以上。对 0.1 和 0.3 mg/L 的标准工作液连续测定 6 次,保留时间 RSD % 在 0.03 % ~ 0.05 % 之间,峰面积 RSD % 在 0.70 % ~ 2.32 %,仪器精密度高。烟用香精样品加标考察方法检出限和定量限,马兜铃酸 A 的检出浓度为 0.3 μg/g,最低定量浓度为 1.2 μg/g。在定量浓度加标考察回收率,两次结果平行性良好,回收率合理,表明前处理方法准确有效。

**关键词:** LC-15C 烟用香精马兜铃酸 A

马兜铃酸天然存在于马兜铃、寻骨风、天仙藤和朱砂莲等马兜铃科植物,属于碳环芳香族酸酚类化合物,是带光泽的棕色叶状结晶。马兜铃酸 A (英文名 Aristolochic Acid A, CAS:313-67-7)。

烟草香精是卷烟生产中必不可少的物质,具有改善卷烟口感的作用。国内很多烟草企业从动植物资源中获

取天然香料应用于卷烟加香,尤其是中药提取物。然而,一些天然中药提取物中含有的马兜铃酸 A,长期摄入可能导致人体基因突变,从而致癌。本文参考 YC/T 406-2011《烟用添加剂中马兜铃酸 A 的测定高效液相色谱法》,使用岛津 LC-15C 液相色谱系统建立了一种快速准确测定烟用香精中马兜铃酸 A 含量的方法。

## 实验部分

### 1.1 仪器

本实验使用岛津 LC-15C 液相色谱系统,包括 LC-15C Pump×2(输液泵),SIL-10AF(自动进样器),CTO-15C(柱温箱),SPD-15C(紫外检测器),LCsolution 15C 色谱工作站。

### 1.2 分析条件

液相条件

流动相: A 相 - 0.1 % 甲酸水溶液 (体积分数);

B 相 - 0.1 % 甲酸乙腈溶液 (体积分数)

流速: 1.0 mL/min

色谱柱: InertSustain C18 4.6 mm I.D.×150 mm L., 3 μm

进样体积: 20 μL

柱温: 35°C

检测波长: 393 nm

洗脱方式: 梯度洗脱,初始比例 B 相 35 %

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
18.00	Pumps	B.Conc	65
19.00	Pumps	B.Conc	98
23.00	Pumps	B.Conc	98
24.00	Pumps	B.Conc	35
30.00	Controller	Stop	

### 1.3 萃取溶剂的配制

配制甲醇 - 水 (9/1, v/v) 混合液,按 1000 mL 混合液中添加 1 mL 色谱级甲酸的比例配制萃取溶剂,混匀后待用。

### 1.4 标准溶液的配制

称取 5 mg 马兜铃酸 A,精确到 0.0001g,置 250 mL 容量瓶中,用萃取溶剂溶解并定容,摇匀,配成质量浓度为 20 mg/L 的标准储备溶液。

马兜铃酸 A 标准工作溶液:用萃取溶液配制浓度分别为 0.05 μg/mL、0.1 μg/mL、0.3 μg/mL、0.5 μg/mL、1 μg/mL、2 μg/mL 和 4 μg/mL 的马兜铃酸 A 标准工作溶液。

### 1.5 样品前处理方法

烟用香精样品前处理:称取样品 1 g,精确至 0.0001 g,置于 5 mL 离心管中,加入 30 mL 萃取溶液,用 150 r/min 振荡萃取 10 min。取 3mL 萃取液置于 10 mL 具塞离心管中,在 5000 r/min 条件下离心 10 min,取 1 mL 上清液过 0.22 μm 有机相滤膜,滤液作为待测样液,备用。

## 结果讨论

### 2.1 标准样品分析

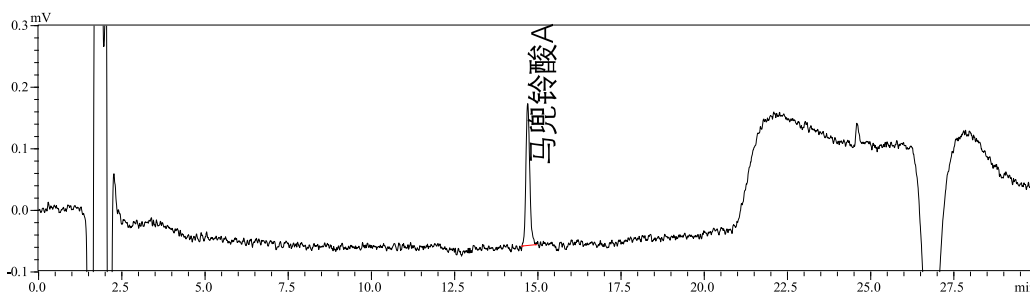


图 1 马兜铃酸 A 标准品 393 nm 下的色谱图 (0.05 mg/L)

### 2.2 线性范围

将 0.05、0.1、0.3、0.5、1、2 和 4 mg/L 不同浓度的标准工作液按 1.2 中的分析条件进行测定，外标法定量。以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线如图 2 所示；所得校准曲线线性关系良好，相关系数均大于 0.999，见表 2。

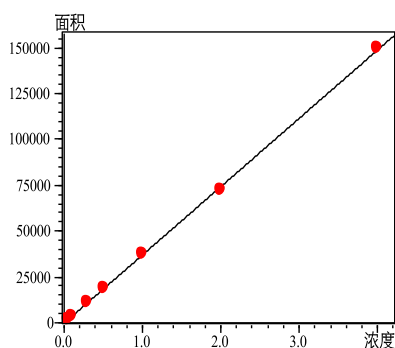


图 2 马兜铃酸 A 校准曲线

表 2 马兜铃酸 A 的校准曲线参数

名称	校准曲线	相关系数 r	线性范围 (mg/L)
马兜铃酸 A	$Y = (37258.4)X + (-218.671)$	0.9998	0.054

### 2.3 精密度实验

对 0.1 mg/L 和 0.3 mg/L 的标准工作溶液连续测定 6 次，考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 3 所示。保留时间 RSD % 在 0.03 % ~ 0.05 % 之间，峰面积 RSD % 在 0.70 % ~ 2.32 %，仪器的精密度良好。

表 3 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

样品名称	RSD% (0.1mg/L)		RSD% (0.3mg/L)	
	RT	Area	RT	Area
马兜铃酸 A	0.05	0.92	0.03	0.70

### 2.4 检出限和定量限

将  $S/N=3$  定义为检出限，将  $S/N=10$  定义为定量限。本方法的检出浓度为 0.3  $\mu\text{g/g}$ ，最低定量浓度为 1.2  $\mu\text{g/g}$ 。将烟用香精样品按照 1.5 样品前处理方法处理后，上机测试，所得色谱图如图 3~ 图 5 所示，空白烟用香精样品对应的谱图见图 3。烟用香精基质在马兜铃酸 A 出峰时间无干扰。检出限对应的谱图见图 4，定量限对应的谱图见图 5。

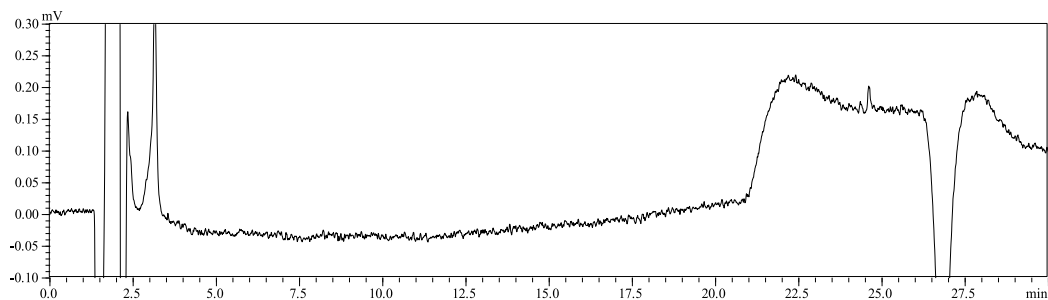


图 3 空白烟用香精样品在 393 nm 下的色谱图

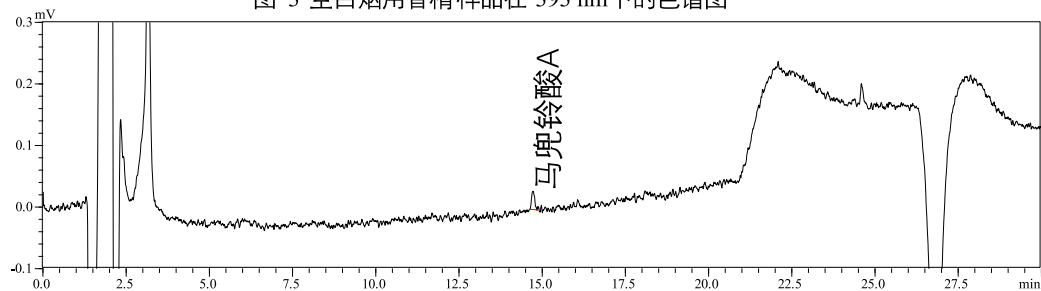


图 4 加标烟用香精样品在 393 nm 下的色谱图 (加标量 0.3 µg/g)

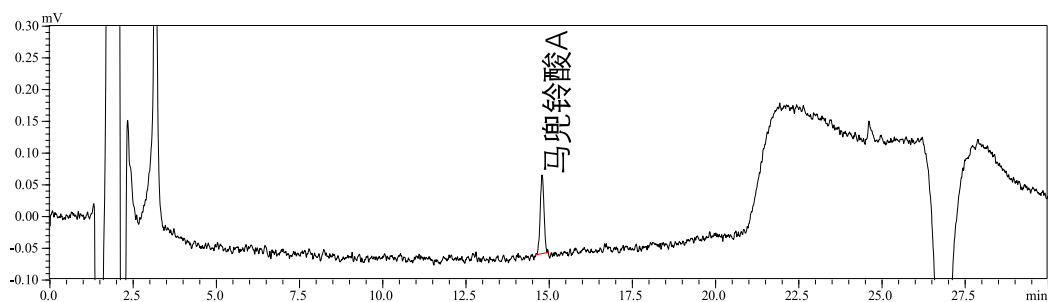


图 5 加标烟用香精样品在 393 nm 下的色谱图 (加标量 1.2 µg/g)

## 2.5 实际样品分析

实际样品分析结果见表 4。空白烟用香精样品中未检测到马兜铃酸 A。对烟用香精样品 1.2 µg/g 加标提取两次，回收率合理，平行性良好。

表 4 烟用香精中马兜铃酸 A 的分析结果

	马兜铃酸 A	
	实测值	回收率 (%)
空白烟用香精	—	—
1.2 µg/g 加标-1	1.11	92.5
1.2 µg/g 加标-2	1.10	91.7

## ■ 结论

本文建立了使用岛津 LC-15C 液相色谱测定烟用香精中马兜铃酸 A 含量的方法。使用外标法绘制校准曲线，校准曲线的相关系数在 0.999 以上。对 0.1 mg/L 和 0.3 mg/L 的标准溶液连续测定 6 次，保留时间 RSD % 在 0.03 % ~ 0.05 % 之间，峰面积 RSD % 在 0.70 % ~ 2.32 %，仪器精密度良好。烟用香精样品加标考察方法的检出限和定量限，分别在 0.3 μg/g 和 1.2 μg/g，满足 YC/T 406-2011《烟用添加剂中马兜铃酸 A 的测定高效液相色谱法》标准要求。在定量限加标考察回收率，两次试验结果平行性良好，回收率合理，表明前处理方法准确有效。岛津 LC-15C 系统能够满足烟用香精中马兜铃酸 A 的检测要求。