

菸草中 Nicotine 之定量

藥學系 葉全益



一、緒 言

Nicotine 為菸草中主要之 Alkaloids，過去已有很多人根據其物理及化學性質訂定多種定量方法，如 Schloesing 氏以氨醣萃取菸草，再用標準酸滴定抽出之遊離蘚基，Bertrand 及 Tairllier 氏以矽鈷酸 (Silicotungstic acid) 沈澱 Nicotine 而求其重量。1911年 Chapin 氏檢討各種定量法認為 Bertrand 氏之 gravimetric method 最為正確，因此美國 A.O.A.C. (Method of analysis of the Association of Official Agricultural Chemists) 遂採用此法為公定法，但此法操作需歷 24~48 小時，且當氯或鉻鹽多量存在時所得分析結果常有顯著誤差。最近有採用 Spectrophotometric method 者所得結果較 Gravimetric method 更為正確，加之操作迅速，故多採用之。本文即介紹 Spectrophotometric method 並將結果和 Gravimetric method 比較之。

二、理 論

菸草中除含有 Alkaloids 外尚有其他複雜成份如 fiber、粘膠素、Protein、Amides、Hydrocarbons、Corbohydrates、Polyphenols 等等，因此在測定以前，必須先將 Nicotine 分離出來，Nicotine 在含有高濃度 alkalic sol'n 中，可用蒸氣蒸餾法從菸草中分離，溜出液再用 Spectrophotometer，測定 optical density 代入如下敘述之公式，即可求出 Nicotine 之含量百分率。

關於 Nicotine 及其 Homologues 之吸收光譜，Willits, Swain Connelly 及 Brice 等已作有專題研究，在紫外線光系中，Nicotine 最高吸收率係在 $260\text{ m}\mu$ 附近，其正確最高位置和強度隨 Solvent 之不同和酸性之強弱而改變（如圖 1）

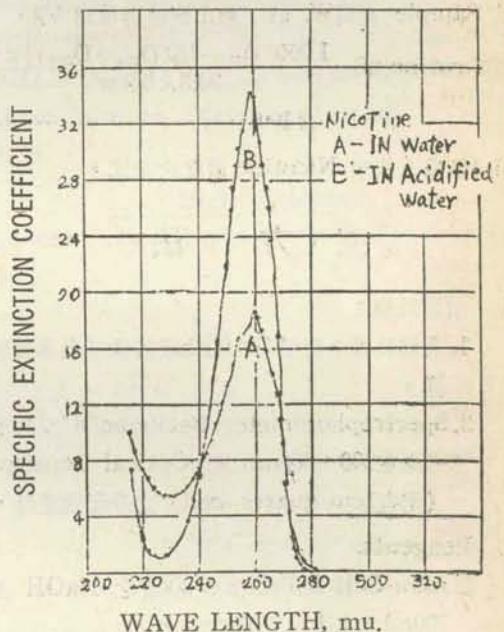


Fig I. Ultraviolet Absorption Spectrum of Nicotine

在水中 Wave length $260\text{ m}\mu$ 時 Specific extinction Coefficient 最高為 18.6，而在 acidified water 中， $259\text{ m}\mu$ 時 Specific extinction coefficient 最高為 34.3，這是因為後者的吸光密度較大之故，Brice 等再在 $259\text{ m}\mu$ 前後求出 Specific extinction Coefficient 最低在 $259 \pm 23\text{ m}\mu$ ，即 $236\text{ m}\mu$ 和 $282\text{ m}\mu$ ，他們將 Nicotine 溶於 acidified water 中，測定 wave length 259, 236, 282 mμ 之 Optical Density 並和 Blank 做比較，發現 wave length 和 observed densities 有下式關係：

$$D'_{259} = 1.059 [D_{259} - \frac{1}{2} (D_{236} + D_{282})] \dots (1)$$

式中 D_{259} , D_{236} , D_{282} 均為各 wave length 時之 observed densities, D'_{259} 則為 Nicotine 在 sol'n

optical density

Fig. 2 STEAM DISTILLATION APPARATUS

再由 $K = D/bc$, $C = D/bk$ (2)
即可求出 Nicotine 之濃度, (2) 式中 C 為每一 liter' sol'n 中含有 Nicotine 之克數, D 為 Nicotine 在 soln 中的 optical density, b 為 cell 之厚度, 通常為 1cm, K 為 Specific extinction coefficient, 如果 1gr 的 Pure nicotine 用 acidified water 溶成 1l, 並用厚度 1cm 之 cell 在 wave length 259m μ 測定時, 則 $K = 34.3$, 由此(2)式可改變為

$$C = D_{259}/34.3b = \frac{1.05(D_{259} - \frac{1}{2}(D_{236} + D_{282}))}{34.3 \times b} \quad (3)$$

當 Sample 重為 W. gr, 淋出液總容積為 Vl,
則 Nicotine(%) = $\frac{1.059(D_{259} - \frac{1}{2}(D_{236} + D_{282})) \times v}{34.3 \times b \times w} \times 100$ (4)

(4) 式即為本法求 Nicotine 濃度之公式,

三、方 法

A. 儀器設備：

1. 蒸餾裝置：使用 Griffith 或其他蒸汽蒸餾裝置。
2. Spectrophotometer: Beckman DU 或其他可測定 200—300m μ 間 Optical Density (配有 1cm quartz cell) 之分光光度計，

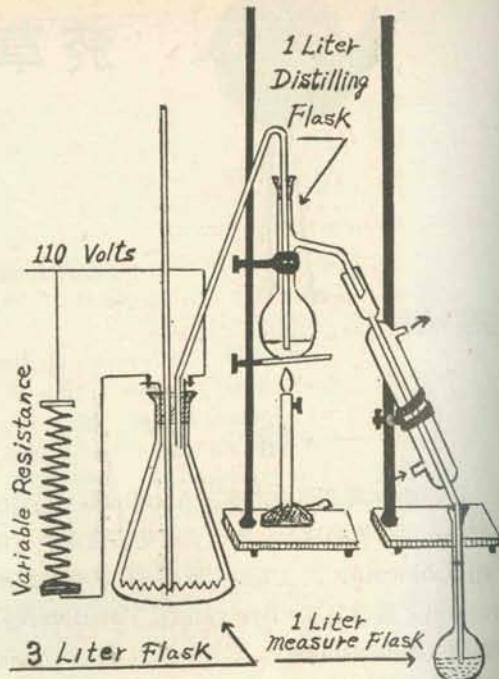
B. Reagents:

- I. Alka-Salt Sol'n: 溶解 300g 之 NaOH 於 700ml 之水中, 以 Nace 飽和之。
2. dil-HCl: 1 + 4 HCl 0.05N-HCl

C. Distillation:

準確秤取經乾燥後磨成可通過 32 mesh 之 tobacco powder 2~5g 移入蒸餾瓶中, 加入 50 ml 之 alka-salt sol'n, 加入時可同時將沾於瓶壁之 Sample 洗入瓶底, 如為維持適度之蒸餾作用瓶內須有更多的溶液時可再加 alka-salt sol'n 不可用水稀釋並須立即蒸餾之, 淋出液以 1000ml 之量瓶收集, 量瓶內須先放置 25ml 之 (1 : 4) HCl 並使冷卻管之出口浸入 HCl Soh'n 內, (如圖 2) 為防止蒸汽凝縮在瓶內使 Alka-Salt Sol'n 之濃度變低, 須在蒸餾瓶下用 Mantle, Burner 或其他熱源來維持燒瓶中之溫度, 使始終近於同一溶量, 淋出液約達 900ml 時即可停止蒸餾, 然後將淋出液稀釋到 1000ml,

D. 測定 (Determination) :



以 0.05N HCl 稀釋淋出液, 使其在波長 259m μ 所測得之 Optical Density 在 0.5~0.8 之間, 然後讀取 236, 259, 282m μ 之 Optical Density, 測定值經換算未稀釋前原淋出液之 Optical Density 後, 可依下式求出 Nicotine 之 %,

$$\text{Nicotine \%} = \frac{105.9(D_{259} - \frac{1}{2}(D_{236} + D_{282}))v}{34.3 \times b \times w}$$

D_{259} = 在 259m μ 所測得之 Optical Density

D_{236} = 在 236m μ 所測得之 Optical Density

D_{282} = 在 282m μ 所測得之 Optical Density

b = 測定溶液之厚度 (cm)

v = 原淋出液之容積 (liter)

w = 樣品重量 (gr)

四、試驗結果

用光分析法和 Bertrand 氏之重量法分析青菸葉和乾菸葉其結果如下：

Table I. Determination of Nicotine in Commminuted Green Tabacco Leaves

Nicotine Found %	
Spectrophotometric	Gravimetric
%	%
8.08	8.16
8.13	8.15
8.21	8.21

X 8.14	8.17	4.	3.17	3.22	3.22
8.13	8.23	5.	4.09	4.07	4.08
8.11	8.16		4.04	4.16	4.12
8.13	8.16	6.	5.24	5.28	5.35
X 8.12	8.18		5.32	5.45	5.40

Table II. Determination of Nicotine in
Dried Tobacco Leaves

五、討 論

Nicotine Found %			
Spectrophotometric		Gravimetric	
%	AV%	%A	V%
1. 0.85	0.85	0.85	0.85
	0.85	2.20	0.84
2. 2.20	2.46	2.21	2.21
3. 2.46	3.17	2.48	2.48

Brice等氏經多次試驗結果，發現在 100 ml 中含有 100mg Nicotine 之濃度時，用光分析法和重量法兩者之準確性相等，但在 100ml 中僅含 10ng Nicotine 時，則以光分析法較為準確，且當濃度高至 10% 時光分析法亦不受 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, Na_2SO_4 , NH_4Cl 之影響，現將其試驗結果列表如下：

Table III Effect of Ammonium and Sodium Salts on Determination of Nicotine in Solution

Low Nicotine			High Nicotine		
Salt, Concentration, Spectrophotometric, Gravimetric,	%	mg/100ml,	Spectrophotometric, Gravimetric		
None	0	10.67	10.59 10.53	82.2	81.3
NH_4Cl	10	10.61	7.29 10.41	81.9	91.7 94.0
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	10	10.61	6.44 6.27	82.1	88.1 85.7
Na_2SO_4	10	10.61	8.22 6.27	82.4	81.3 81.2

六、結 論

綜觀上述，用 Spectrophotometric method 及 Bertrand 氏之 gravimetric method 較為簡便而且結果不受 Ammonium 或 Sodium Salt 之影響如有 Spectrophotometer 當以此法分析為宜。

大多數 Alkaloids 不是對生理上有害就是有醫療作用，Nicotine 即屬於前者但其 derivatives 有很多是身體上不可或缺的東西，如 Nicotinic acid, Nicotinamide 等。最近歐美有些化學家從事於自 Tobacco Sand 中抽取 Nicotine 以製造 Nicotine Sulfate 之研究，對農藥之製造甚有價值

。無論 Nicotine 之用途如何，在生藥應用上定其含量乃屬必要之步驟，因含量之多寡及分析之正確與否影響其利用價值甚鉅，所以分析在生藥應用上非常重要。

Reference

1. Willits, C. O., Swain, M. L., Connelly, J. A., and Brice, B. A., Anal. Chem., 23, 430 (1950)
2. A. O. A. C. Ed. 9, 94 (1960)
3. Willaman, J. J., Ind. Eng. Chem., 44, 2, 270 (1952)
4. C. L. OGG., Willits, C. O., Anal. Chem. 23, 335 (1950)