

煙草及びその煙に含まれる nornicotine の 1.3-indanedione による分光分析法

Determination of nornicotine in tobacco and smoke by the 1.3-indanedione spectrophotometric method.

Eugene Glock and Mary P. Wright.

Analyt. Chem., 35, 246, (1963)

煙草の alkaloids については多くの分析法があるが、nornicotine (3-pyridyl-2-pyrrolidine) を他の secondary amine alkaloids 特に nicotiana 種や、市販の煙草の一般成分である anabesine や anatabine と区別する事が出来ない。そこで煙草及びその煙に含まれる nornicotine の分別定量法として、(1) Fein-stein らの方法を改良したもので、1.3-indanedione との反応生成物が濃紫色を示す事から、これの可視部吸収スペクトルを測定するものと、(2) phosphate buffer (0.15M, K_2HPO_4 - KH_2PO_4 , pH. 7.2) を用いた paper chromatography (1-BuOH-Phosphate buffer 7:1 v/v.) と紫外部吸収スペクトルの併用による方法とについて比較検討を加え、そのいずれにおいても得られる結果は兩者共、表に示すように大差のないものであった。特に indanedione 法は nornicotine が 5~100 μ g で供試され、Kuhn らによる isatin 法よりも発色に加熱を必要としない点や、実験室的に簡便に行う事が出来、その上、nicotine, myosmine, anabesine や anatabine 及びその他全ての pyridine alkaloids の干渉を受けないので有利な方法といえる。

実験法 その概略は煙草中の nornicotine を chloroform 溶媒で連続或いは振盪抽出し、また煙はその主流を 1N-HCl に通じて捕集し、水蒸気蒸溜ののち paper chromatography 分離 (BuOH-HCl-H₂O

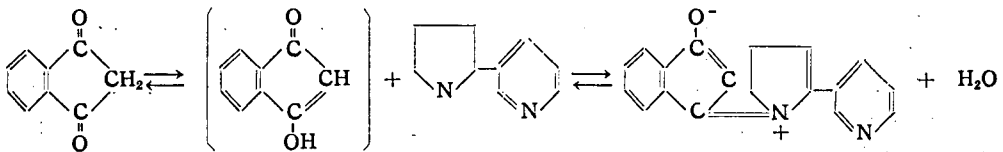
10:2:3 v/v., nornicotine Rf=0.265) を行い、更に chloroform 抽出を行った。これらについて indanedione 反応等を実施した。

考察 1.3-Indanedione 反応において最高度の発色をさせるには non-aqueous な buffer system が必要であり、また p-hydroxy benzoic acid のような弱酸を過剰に用いると塩基性の nornicotine 溶液を緩衝する作用がみられ、acetic, fumatic, hydrochloric acid は反応を完全に阻害する。反応は室温でよく、100% 発色は数時間で達成され、顕著な褪色もみられず安定である。

Nicotine も anabesine もほとんど発色を阻害せず、pyrrolidine, piperidine, morpholin, proline その他の aliphatic amine は indanedione と反応する物質であるが、nornicotine を煙中から単離するのに用いた BuOH-HCl-H₂O の chromatography 法では、最初の chromatography で除去され、この chromatography 分離によって得られた nornicotine 量と、chloroform 抽出によるそれとが一致する事は、これらの干渉化合物が煙草中にほとんど認められるような量では存在しないことを示している。

標準 nornicotine や Burley 種煙草から抽出して得られたもの等と indanedione との反応生成物の可視部吸収スペクトルは、540~550m μ の範囲に広い吸収最大値を示している。

Nornicotine と 1.3-indanedione との反応機構は、まず indanedione の enol 化が起り、それに続く脱水と、indanedione の 1 の位置における nornicotine の pyrrolidine 環の N との結合によるもので、紫色の発色も下に示すような共鳴混成体に基くものと説明される。



煙草中の nornicotine 量の測定法による比較

方 法	Nornicotine (%)		
	Flue-cured	Burley	Dark, air-cured type
振盪抽出・indanedione	0.05 ₆	0.20 ₅	4.44
連続抽出・indanedione	0.05 ₆	0.20 ₃	4.57
水蒸気蒸溜・chromatography (BuOH-HCl-H ₂ O)・連続抽出・indanedione	0.06 ₈	0.19 ₉	4.45
振盪抽出・chromatography (pH. 7.2, phosphate buffer)・紫外分光分析	0.06 ₇	0.21 ₃	4.20

(坂田 元三)