

# ARS PHARMACEUTICA

REVISTA DE LA FACULTAD DE FARMACIA  
UNIVERSIDAD DE GRANADA

TOMO VI - Núm. 3-4

Marzo - Abril, 1965

**Director:** PROF. DR. JESUS CABO TORRES  
**Subdirector:** PROF. DR. JOSE M.<sup>a</sup> SUÑÉ ARBUSSA  
**Redacción y Administración:**  
FACULTAD DE FARMACIA - GRANADA - ESPAÑA

## SUMARIO

PAG.

### *Trabajos originales de la Facultad*

- Estudio comparativo de las valoraciones de Nicotina por el método colorimétrico del complejo formado con naftilamina y BrCN, y por el método espectrofotométrico en el ultravioleta, por M. Valero, R. G. Villanova y J. Thomas ... .. 95

### *Trabajos de revisión*

- ¿Cosmetología o Dermofarmacia?, por J. O. Verd... 113  
La Materia Médica de Dioscorides, por J. M.<sup>a</sup> Suñé y M.<sup>a</sup> J. Ruiz ... .. 119

### *Bibliografía*

#### *Revistas*

- Relación de revistas con las cuales se mantiene intercambio y números recibidos ... .. 123

CATEDRA DE TECNICA FISICA Y FISICOQUIMICA

Prof. encargado Dr. J. Thomas

## **Estudio comparativo de las valoraciones de nicotina por el método colorimétrico del complejo formado con naftilamina y BrCN, y por el método espectrofotométrico en el ultravioleta**

por

M. Valero, R. García Villanova y J. Thomas

Con el objeto de utilizar una reacción sensible y cómoda, de valor cuantitativo, para la determinación de nicotina, en los trabajos de adsorción que estamos realizando con un gel de sílice-alúmina, hemos ensayado, entre otros métodos, el propuesto por A. OLLERO GÓMEZ y R. COTA GALÁN (1), basado en los estudios de KÖNIG (2) y BAYER (3), y en los posteriores de BARTA (4) y MARKWOOD (5). Los resultados conseguidos por nosotros, según estas pautas, los hemos comparado con los obtenidos por espectrofotometría directa en el ultravioleta, para lo que se han seguido las normas indicadas en los Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists (6).

A través de unos y otros resultados llegamos a las conclusiones que son objeto de la presente comunicación.

Con independencia de las conocidas valoraciones gravimétricas de nicotina, se han propuesto otras de diverso carácter fisicoquímico. Así, para valoraciones de disoluciones de elevada concentración en nicotina, se han seguido procedimientos polarimétricos, basados en los estudios de POPOVICI (7), y entre los que se pueden citar los de J. VON DEGRACIA (8) y TOOLE (9). A causa de las racemizaciones de la nicotina no ha prosperado este tipo de técnicas.

G. SEMERANO (10) logró determinaciones de gran sensibilidad mediante el empleo de el electrodo de gotas de mercurio, y su procedimiento fue desarrollado posteriormente por RUSCONI, MONNIER y WENGER (11), con medidas realizadas en medio clorhídrico a un po-

tencial de 1,3 voltios. J. VOLKE y V. VOLKOVA (12) lo han hecho extensivo a varios derivados piridínicos. Así se han llegado a determinar concentraciones límites de 0,005-0,006 g en 50 cm<sup>3</sup> de disolución.

G. DE ANGELIS (13) ha valorado la nicotina por un método amperométrico a través de la reacción con el ácido silicicotúngstico en medio clorhídrico, y M. DEZELIO y B. SATNIC (14) han hecho determinaciones cuantitativas por medidas conductimétricas y amperométricas frente a distintos ácidos orgánicos. El método conductimétrico había sido utilizado anteriormente, a escala semimicrométrica, por RIPANTILICE y F. ARISTEA (15).

Además de las anteriores técnicas se han utilizado otras que miden el índice de refracción de las disoluciones de nicotina, la tensión superficial de las mismas, por el método capilar manométrico, o que realizan titulaciones termométricas (16). Más recientemente se ha aplicado la cromatografía en fase de vapor por L. D. QUIN y N. A. PAPPUS (17), así como la cromatografía en papel (18).

Sin embargo, a pesar de los múltiples procedimientos preconizados, los métodos espectrofotométricos han sido los de mayor aplicación y desarrollo. Estos se basan en la determinación directa de la nicotina en la región del ultravioleta, o en la fotocolorimetría de diversos compuestos coloreados de la misma.

La determinación en el ultravioleta no ha estado unificada totalmente por los distintos autores, debido especialmente a que es interferida por la presencia de varios derivados piridínicos. E. HOFFMANN (19) distingue la nicotina y la piridina por los máximos de absorción que encuentra, a 2.563 Å para la segunda, y a 2.700 Å para la primera. WILLITS, SWAIN, CONNELLY y BRICE (20), en un estudio comparativo de la determinación con el ácido silicicotúngstico y la determinación espectrofotométrica, observan un máximo de absorción a los 2.500 Å, y dos mínimos a 2.360 Å y 2.820 Å. Esta misma determinación es utilizada por S. J. WILLAMAN (21), RAMA MOORTHY, B. G. CHATTERJEE, C. DAKSHINAMUSTI, K. C. GULATTI (22), y por G. SCHWARTMANN (23).

Entre las reacciones fotocolorimétricas se pueden citar las basadas en la reacción del ácido silicicomólfbdico con la nicotina, que es aprovechada por HOFFMANN (24) y por M. TAKENCHI y K. MIKAMI (25) para el desarrollo de una coloración azul por reducción con glicina, pudiéndose así detectar concentraciones de 100 µg/cm<sup>3</sup> a una lon-

cuantitativa para todos los alcaloides precipitables por el ácido silicigénico de onda de 6.700 Å. G. GHEZZI (26) describe una valoración cuantitativa para todos los alcaloides precipitables por el ácido cotingístico por una reducción del precipitado con  $\text{Cl}_2\text{Sn}$ , disolución y posterior lectura con filtro amarillo.

Recientemente, E. ASMUS y D. PAPENJUS (27), y E. ASMUS, R. HOHNE y J. FRAETSCH (28) estudian la reacción de la nicotina y piridina con el dialdehído glutacónico y la posterior condensación con el ácido barbitúrico, para la formación de un complejo coloreado que presenta un máximo de absorción a los 5.780 Å y 5.090 Å.

De todas las reacciones coloreadas de la nicotina las más utilizadas han sido aquellas que se basan en los trabajos de KÖNIG (2) y BAYER (3) sobre los compuestos de adición del  $\text{BrCN}$  con la piridina, descompuestos por aminas primarias o secundarias en productos colorantes piridínicos. Estas reacciones se han hecho extensivas a la nicotina al utilizar diversas aminas aromáticas. Así, la bencidina ha sido recomendada por R. FABRE, R. TRHAUT y C. BOUDERRE (28), por J. CUZIN y D. SCHWARTZ (29), y la anilina por E. YAMAMOTO, M. TAKEUCHI y A. TSUJIMOTO (30). La amina más empleada ha sido la beta-naftilamina, indicada en sus trabajos por L. BARTA (4) que ha dado lugar a multitud de comunicaciones, parece ser que ha suministrado los mejores resultados. Entre otros, han trabajado con ella A. C. CORCORAN, O. M. HELMER, I. H. PAGE (31) y N. MARKWOD (5).

En general, todas estas reacciones colorimétricas presentan el inconveniente de su falta de especificidad ante pequeñas variaciones de pH en el medio, o ante la alteración de los reactivos con el tiempo.

## MATERIAL Y METODOS

A.—Determinación colorimétrica de nicotina.

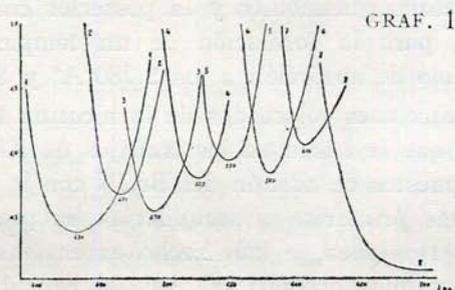
Se han empleado un absorciómetro Spekker, de la firma Hilger, con los ocho filtros de que dispone, y un espectrofotómetro Beckman DU.

Reactivos.

- 1.—Disolución madre de nicotina al 1%, en agua destilada y previamente saturada de  $\text{OMg}$ .
- 2.—Disolución alcohólica de naftilamina, preparada por disolución de 0,3 g de  $\alpha$ -naftilamina, o de sus isómero  $\beta$  según los casos, en 145  $\text{cm}^3$  de alcohol etílico de 96° y 26  $\text{cm}^3$  de agua destilada, con lo que resulta una disolución al 0,2%.

3.—Disolución de bromuro de cionógeno, obtenida a partir de agua de bromo y añadiendo sobre ella, gota a gota, disolución 2 M de CNNa hasta débil coloración amarilla, y después, también gota a gota, disolución 0,2 M de CNNa hasta desaparición de color.

4.—Agua saturada de Omg, filtrada después, y de pH igual a 10,2. Preparación de la escala colorimétrica.



Absorciones de los filtros del absorciómetro empleado, determinadas en el espectrofotómetro Beckman Du

Se ha hecho de acuerdo con las necesidades particulares de cada caso estudiado, y en líneas generales conforme al esquema de tabla I.

Escala para la valoración colorimétrica en el absorciómetro Spekker

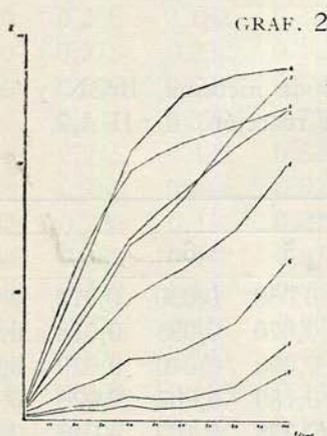
Tubo	Sol. A (100 / cm <sup>3</sup> ) n.º de cm <sup>3</sup>	cm <sup>3</sup> de H <sub>2</sub> O	cm <sup>3</sup> de la di- solución al- cohólica, de naftilamina	cm <sup>3</sup> de la di- solución de BrCN	γ/ cm <sup>3</sup>
1	0,025	4,975	5	1	0,5
2	0,050	4,950	5	1	1
3	0,100	4,900	5	1	2
4	0,250	4,750	5	1	5
5	0,500	4,5	5	1	10
6	1,0	4,0	5	1	20
7	1,5	3,5	5	1	30
8	2,0	3,0	5	1	40
9	2,5	2,5	5	1	50
10	3,0	2,0	5	1	60
11	4,0	1,0	5	1	80
12	5,0	—	5	1	100

Tabla I

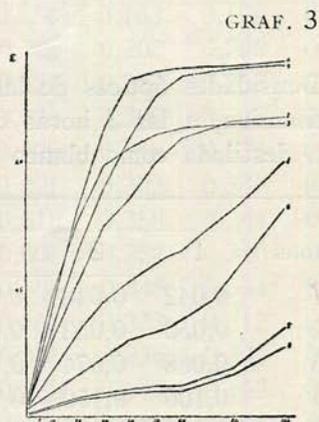
Los valores de los pH de las disoluciones finales han resultado comprendidos entre los límites 3,6—4,5.

Con objeto de poder comprobar los valores de longitud de onda de la radiación incidente, para los que se cumpla la ley de Beer, en la disoluciones empleadas, se han utilizado todos los filtros de que disponen el absorciómetro Spekker, cuyas absorciones se han comprobado previamente con el espectrofotómetro Beckman DU, y con dichos filtros se han medido en el absorciómetro las densidades ópticas de las disoluciones de la escala.

En la gráfica 1 se representan las curvas de absorción correspondientes a los filtros del absorciómetro. La tabla II recoge las densidades ópticas de las disoluciones citadas, para el isómero  $\alpha$ , y en la tabla III los valores correspondientes para el isómero  $\beta$ . Sus



Absorciones en función de la concentración de nicotina (con el isómero  $\alpha$ ) con los distintos filtros del absorciómetro Spekker



Absorciones en función de la concentración de nicotina (con el isómero  $\beta$ ) con los distintos filtros del absorciómetro Spekker

respectivas gráficas son las de las figuras 2 y 3. Los valores de éstas se han obtenido para los tiempos de desarrollo óptimo de color, de acuerdo con el citado trabajo de Ollero Gómez y Cota Galán.

Densidades ópticas de las disoluciones de nicotina, BrCN, alfa-naftilamina, a las 5 horas 20 minutos de iniciada la reacción, a pH 4, y con agua destilada como blanco (\*).

(\*) Las lecturas de las densidades ópticas de las disoluciones se han efectuado en los tiempos consignados en una y otra tabla, cronometrando cuidadosamente dichos tiempos desde el principio de la preparación de cada disolución.

Tubos	Filtros							
	1	2	3	4	5	6	7	8
1	0,046	0,050	0,070	0,060	0,051	0,034	0,021	0,013
2	0,050	0,057	0,079	0,071	0,059	0,036	0,022	0,017
3	0,059	0,071	0,102	0,090	0,072	0,040	0,023	0,018
4	0,094	0,122	0,187	0,156	0,113	0,051	0,026	0,017
5	0,149	0,205	0,340	0,285	0,190	0,078	0,038	0,025
6	0,264	0,392	0,610	0,540	0,351	0,132	0,058	0,042
7	0,359	0,541	0,813	0,788	0,502	0,167	0,062	0,038
8	0,470	0,708	0,974	1,051	0,684	0,240	0,095	0,061
9	0,535	0,810	1,036	1,170	0,757	0,248	0,087	0,048
10	0,590	0,895	1,086	1,276	0,868	0,275	0,089	0,053
11	0,742	1,070	1,152	1,350	1,131	0,381	0,135	0,080
12	0,995	1,221	1,228	1,580	1,350	0,620	0,300	0,193

Tabla II

Densidades ópticas de las disoluciones de nicotina, BrCN y beta-naftilamina, a las 2 horas de iniciada la reacción, a pH 4,2, y con agua destilada como blanco (\*).

Tubos	Filtros							
	1	2	3	4	5	6	7	8
1	0,042	0,048	0,050	0,048	0,050	0,030	0,012	0,010
2	0,050	0,052	0,078	0,076	0,070	0,035	0,018	0,013
3	0,058	0,074	0,120	0,106	0,098	0,040	0,020	0,020
4	0,100	0,150	0,273	0,228	0,180	0,062	0,026	0,026
5	0,178	0,293	0,466	0,427	0,338	0,102	0,046	0,034
6	0,326	0,525	0,770	0,820	0,648	0,152	0,072	0,062
7	0,450	0,747	0,981	1,123	0,896	0,235	0,092	0,074
8	0,538	0,856	1,055	1,320	1,093	0,302	0,106	0,082
9	0,610	0,996	1,104	1,350	1,256	0,340	0,120	0,096
10	0,648	1,090	1,130	1,365	1,330	0,374	0,120	0,098
11	0,920	1,156	1,143	1,370	1,360	0,620	0,180	0,165
12	1,110	1,170	1,149	1,380	1,370	0,810	0,350	0,276

Tabla III

(\*) Las lecturas de las densidades ópticas de las disoluciones se han efectuado en los tiempos consignados en una y otra tabla, cronometrando cuidadosamente dichos tiempos desde el principio de la preparación de cada disolución.

El isómero  $\beta$  suministra coloraciones más intensas que el  $\alpha$ , y por ello hemos prescindido de este último en sucesivas determinaciones.

La influencia del tiempo sobre el desarrollo de color se ha estudiado también haciendo las medidas de las densidades ópticas de las disoluciones en el espectrofotómetro Beckman, con cubas de 1 cm de espesor. Los resultados se expresan en la tabla IV.

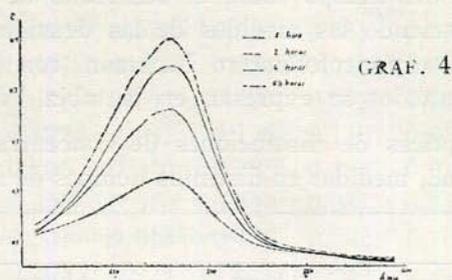
Densidades ópticas de disoluciones de concentraciones respectivas de 8 y 16  $\gamma$  por  $\text{cm}^3$ , medidas en distintos tiempos de reacción, a pH 4,8.

$\lambda$ (en $\text{m}\mu$ )	Densidades ópticas							
	1 hora		2 horas		4 horas		6,5 horas	
	16 $\gamma/\text{cm}^3$	8 $\gamma/\text{cm}^3$						
410	0,136	0,113	0,168	0,104	0,143	0,110	0,127	0,068
420	0,191	0,143	0,229	0,137	0,188	0,133	0,152	0,073
430	0,266	0,182	0,318	0,180	0,250	0,163	0,179	0,086
440	0,375	0,232	0,442	0,238	0,328	0,202	0,208	0,108
450	0,509	0,301	0,588	0,311	0,425	0,252	0,253	0,132
460	0,541	0,370	0,738	0,385	0,523	0,306	0,298	0,148
470	0,745	0,423	0,825	0,442	0,596	0,348	0,336	0,170
480	0,788	0,444	0,895	0,463	0,621	0,362	0,346	0,178
482	0,786	0,444	0,891	0,461	0,618	0,358	0,344	0,178
484	0,785	0,442	0,878	0,453	0,603	0,352	0,340	0,173
486	0,773	0,433	0,862	0,445	0,588	0,345	0,334	0,170
490	0,725	0,410	0,807	0,416	0,551	0,323	0,312	0,166
500	0,523	0,303	0,582	0,303	0,395	0,236	0,233	0,120
510	0,309	0,185	0,338	0,178	0,238	0,147	0,152	0,078
520	0,162	0,107	0,181	0,097	0,137	0,088	0,101	0,056
530	0,093	0,070	0,107	0,059	0,088	0,060	0,076	0,040
540	0,068	0,053	0,078	0,043	0,068	0,047	0,064	0,036
550	0,054	0,045	0,066	0,034	0,059	0,040	0,058	0,030
560	0,043	0,037	0,053	0,027	0,048	0,032	0,048	0,020
575	0,025	0,027	0,055	0,017	0,032	0,032	0,032	0,020
595	0,011	0,019	0,018	0,008	0,017	0,013	0,018	0,012

Tabla IV

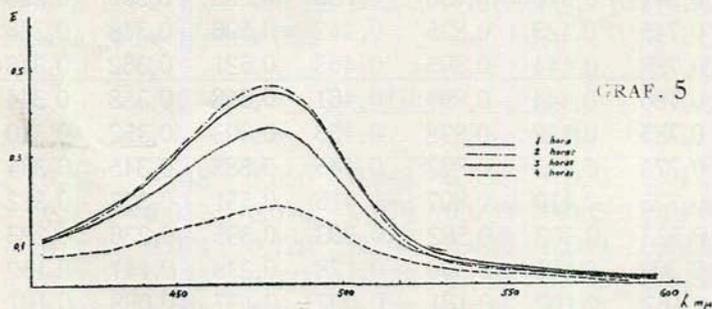
Los valores de la tabla IV se han representado en las gráficas 4 y 5, frente a los valores de las longitudes de onda. En la gráfica 6 se ha dibujado la curva que une los máximos de absorción para los

distintos tiempos empleados, tanto para las disoluciones de concentración igual a  $16 \gamma/\text{cm}^3$ , como para las de  $8 \gamma/\text{cm}^3$ .



Curva de absorciones, a distintos tiempos, correspondientes a una concentración de  $16 \gamma/\text{cm}^3$  a  $\text{pH}=4,8$

Una vez determinada la longitud de onda para la que se origina la máxima absorción de radiación, se han hallado los valores de las densidades ópticas de disoluciones de concentraciones variables de nicotina. Los resultados se han reunido en la tabla V, y se han representado en la gráfica 7.



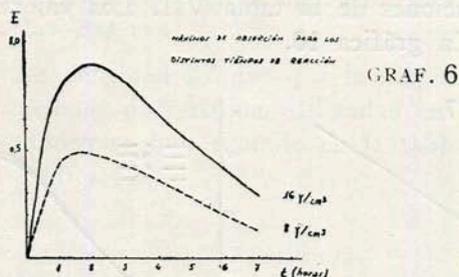
Curva de absorción a distintos tiempos, correspondiente a una concentración de  $8 \gamma \times \text{ml}$ ,  $\text{pH}=4,8$

Densidades ópticas de disoluciones de distinta concentración, a las dos horas de reacción, y a  $\text{pH} 4,8$ . ( $\gamma = 480 \text{ m}\mu$ ).

Concentración en $\gamma/\text{cm}^3$	Densidad óptica	Concentración en $\gamma/\text{cm}^3$	Densidad óptica
2	0,121	10	0,516
4	0,224	12	0,615
6	0,322	14	0,702
8	0,420	16	0,804

Tabla V

También se han hecho otras experiencias con disoluciones más ácidas que las anteriores, y las respectivas densidades ópticas se han consignado en la tabla VI.



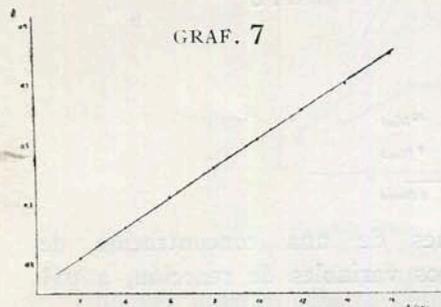
Densidades ópticas de disoluciones de una concentración de  $16 \gamma / \text{cm}^3$ , medidas después de tiempos variables de reacción, a pH 3,62 y 4,35.

$\lambda$ (en $m\mu$ )	Densidades ópticas							
	1 hora		2 horas		3 horas		4 horas	
	pH = 3,62	pH = 4,35	pH = 3,62	pH = 4,35	pH = 3,62	pH = 4,35	pH = 3,62	pH = 4,35
410	0,172	0,117	0,192	0,164	0,191	0,169	0,188	0,171
420	0,197	0,170	0,213	0,206	0,212	0,206	0,210	0,210
430	0,232	0,226	0,245	0,257	0,243	0,250	0,237	0,252
440	0,287	0,288	0,298	0,303	0,287	0,297	0,277	0,282
450	0,368	0,376	0,370	0,392	0,351	0,378	0,338	0,353
460	0,460	0,444	0,456	0,490	0,432	0,480	0,410	0,443
470	0,556	0,557	0,548	0,593	0,519	0,572	0,500	0,533
480	0,637	0,654	0,630	0,670	0,600	0,648	0,578	0,607
490	0,682	0,677	0,683	0,695	0,655	0,679	0,638	0,642
500	0,680	0,642	0,701	0,658	0,681	0,650	0,670	0,630
510	0,667	0,592	0,704	0,616	0,700	0,613	0,693	0,607
520	0,654	0,559	0,708	0,586	0,707	0,592	0,710	0,593
530	0,633	0,533	0,696	0,565	0,700	0,573	0,706	0,581
540	0,617	0,518	0,685	0,553	0,695	0,567	0,694	0,573
550	0,584	0,498	0,650	0,498	0,660	0,547	0,662	0,553
560	0,480	0,413	0,534	0,443	0,535	0,451	0,540	0,455
565	0,407	0,344	0,362	0,376	0,368	0,380	0,368	0,382
580	0,188	0,163	0,210	0,177	0,210	0,177	0,207	0,179
590	0,102	0,090	0,108	0,106	0,108	0,108	0,108	0,110
600	0,057	0,043	0,058	0,050	0,059	0,050	0,058	0,051

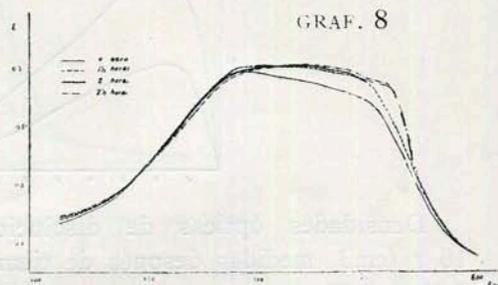
Tabla VI

Estas cifras de la tabla VI se han llevado a las gráficas 8 y 9.

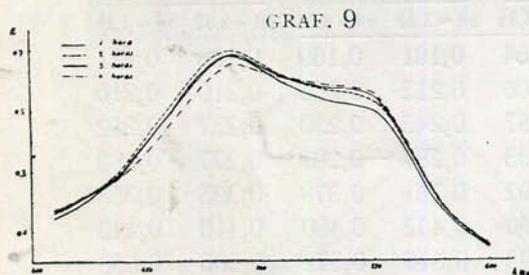
Posteriormente se ha tratado de conocer la influencia de la concentración del BrCN sobre el desarrollo de color, y para ello se han parado las disoluciones de la tabla VII. Los valores de ésta se han representado en la gráfica 10.



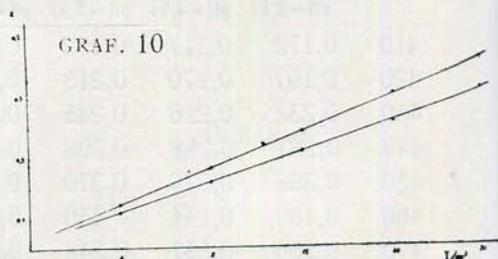
Concentración variable, pH = 4,8,  
t = 2 horas, 480 m $\mu$ .



Curva de absorciones, a distintos tiempos,  
correspondientes a una concentración  
de 16  $\gamma/cm^3$  A pH = 3,62



Curva de absorciones, a distintos tiempos,  
correspondientes a una concentración  
de 16  $\gamma/cm^3$  A pH = 4,35



Concentración — Densidad óptica, para  
concentraciones variables de Br CN

Densidades ópticas correspondientes a disoluciones con cantidad variable de BrCN, a las 1,5 horas de reacción, a 480 m $\mu$ , de pH 4,6

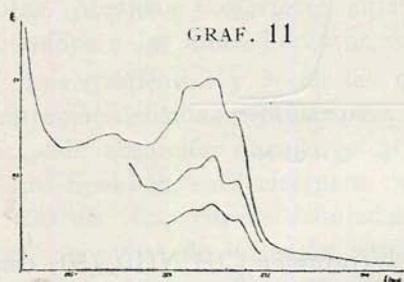
$\gamma/cm^3$	Densidades ópticas	
4	(a) 0,145	(b) 0,118
8	0,263	0,215
12	0,381	0,317
16	0,503	0,410
20	0,613	0,514

- (a) Igual concentración de BrCN que en la tabla I  
(b) Mitad de concentración de BrCN que en la tabla I

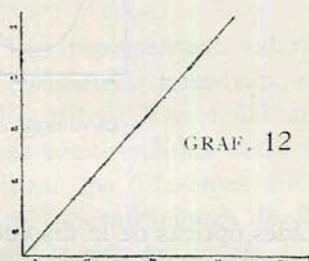
Tabla VII

En el ultravioleta, la disolución original de nicotina utilizada para la reacción colorimétrica, una vez diluída convenientemente, posee absorciones que se han representado en la figura 11. El máximo de absorción se presenta a las 260  $m\mu$ .

Se han medido las densidades ópticas, a la longitud de onda antes citada, de las disoluciones de nicotina utilizadas en la reacción colorimétrica. Los resultados se han reunido en la tabla VIII y se han representado en la gráfica 12.



Absorciones en ultravioleta de la disolución de nicotina utilizada para la reacción colorimétrica, pH = 10,2



Concentración — Densidades ópticas, a 260  $m\mu$ , A pH = 10,2

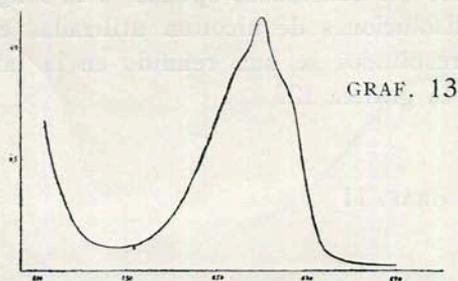
Densidades ópticas de las disoluciones de nicotina empleadas en la escala colorimétrica, correspondientes a una radiación de  $\lambda = 260 m\mu$ .

Concentración en $\gamma / cm^3$	Densidades ópticas	Concentración en $\gamma / cm^3$	Densidades ópticas
6	0,115	30	0,572
12	0,225	33	0,627
15	0,286	36	0,689
18	0,351	39	0,750
21	0,407	42	0,814
24	0,467	45	0,860
27	0,517		

Tabla VIII

Finalmente, y de acuerdo con las pautas señaladas por B. R. Moorthy (22), se han preparado disoluciones ácidas de nicotina, y se han

medido sus respectivas densidades ópticas. Los resultados corresponden a los de la tabla IX, y se han llevado a la gráfica de la figura 13.



Densidades ópticas , en ClH 0,1 N

Densidades ópticas de la disolución de nicotina en ClH N/10, (50 $\gamma$ /cm<sup>3</sup>)

$\lambda$	Densidad óptica	$\lambda$	Densidad óptica	$\lambda$	Densidad óptica
212	0,606	244	0,378	265	0,837
218	0,245	246	0,467	266	0,803
220	0,173	248	0,570	267	0,738
222	0,137	250	0,675	268	0,638
223	0,127	252	0,800	269	0,520
224	0,117	253	0,855	270	0,395
225	0,113	254	0,904	271	0,283
226	0,108	255	0,940	272	0,025
227	0,107	256	0,970	273	0,028
228	0,108	257	1,000	274	0,032
230	0,111	258	1,080	275	0,062
232	0,118	259	1,130	276	0,077
234	0,135	260	1,140	282	0,102
235	0,147	261	1,070	286	0,200
236	0,162	262	0,980	290	0,143
240	0,243	263	0,983		
242	0,304	264	0,873		

Tabla IX

## DISCUSION

Las experiencias realizadas con los isómeros  $\alpha$  y  $\beta$  de la naftilamina corroboraron el hecho de que la segunda de ellas suministra una coloración de más intensidad que su correspondiente isómero. Así mismo ponen de manifiesto que la estabilidad de color se alcanza antes para el segundo, de manera que éste, a las concentraciones y pH consignados en la tabla III, adquiere su máxima intensidad a las dos horas, al tanto que el alfa, como se aprecia del examen de los datos de la tabla II, no ha reaccionado totalmente una vez transcurridas cinco horas. Medidas posteriores suministraron valores más altos que los obtenidos a las cinco horas de reacción.

Las gráficas 2 y 3, en las que se han representado valores concentración-densidad óptica para ambos isómeros, muestran un máximo de absorción cuando se utilizan los filtros 3 y 4 del absorbímetro Spekker, es decir, para radiaciones comprendidas entre 480  $m\mu$  y 530  $m\mu$ . Las curvas dibujadas al utilizar los diferentes filtros poseen un punto de inflexión situado entre concentraciones de 30 y 40  $\gamma/cm^3$ , y hasta ese punto siguen sensiblemente la ley de Beer. La repetición de la experiencia, con el mismo tiempo de duración de la reacción y con reactivos en las mismas condiciones, ha facilitado valores ligeramente diferentes para el mismo isómero, lo que pone de manifiesto la inespecificidad de la reacción colorimétrica en ambos casos. Los valores más coincidentes se han obtenido al utilizar reactivos recientemente preparados, pero aún así las coincidencias no son totales.

Las medidas realizadas con el espectrofotómetro Beckman DU permiten concretar el máximo de absorción para una radiación de 480  $m\mu$ . Del examen de las gráficas 4 y 5, para concentraciones respectivas de 16 y 8  $\gamma/cm^3$ , se deduce también que la reacción es total una vez transcurridas 2 horas de unidos los reactivos, y que después disminuye la intensidad de coloración, hasta hacerse muy débil a las seis horas y media. Para la radiación de 480  $m\mu$  se sigue sensiblemente la ley de Beer, como se puede apreciar a través de los valores de la tabla IV y de las gráficas 4 y 5. Asimismo los puntos correspondientes a la tabla V se encuentran sobre una línea recta para concentraciones comprendidas entre 2 y 16  $\gamma/cm^3$ , pero no son exactamente coincidentes con los que previamente se habían obtenido para la tabla IV. También aquí se pone de manifiesto la falta de reproductibilidad total en la reacción, y la presencia de factores incon-

trolables en una experiencia escrupulosa, como pudiera ser la existencia conjunta de otras aminas del tipo de la nornicotina.

Al hacer las valoraciones con disoluciones más ácidas que las anteriores, como se indica en la tabla VI y en las gráficas 8 y 9, se encuentra un desplazamiento del máximo de absorción hacia radiaciones de mayor longitud de onda, y ello tanto más cuanto más se acidifica el medio. En estas condiciones se alcanza antes el máximo de coloración y de estabilidad, pero a expensas de una disminución en la especificidad de la medida.

El estudio de la influencia de las concentraciones de BrCN, al que corresponden los valores de la tabla VII, evidencian que la concentración de aquél influye más que la acidez en la formación óptima del compuesto coloreado. Esto pudiera significar que las concentraciones de BrCN, aconsejadas en los trabajos sobre esta reacción colorimétrica, no son las óptimas, y que posiblemente la falta de especificidad radique en la dificultad de utilizar un reactivo totalmente estable. Sin embargo, cuando se emplea disolución de BrCN en exceso, vuelven a encontrarse resultados que no son totalmente reproducibles. Esta falta de coincidencia absoluta de valores ha motivado que no haya sido posible el cálculo exacto del coeficiente de absorción de la sustancia coloreada, a pesar de haberse ensayado el método de las variaciones continuas de Job.

Las medidas espectrofotométricas a  $260 \text{ m}\mu$  de las disoluciones obtenidas a partir de la original utilizada en la reacción colorimétrica, permiten disponer de una sensibilidad mayor en la determinación cuantitativa. Si el alcaloide se disuelve directamente en ClH N/10 aumenta esa sensibilidad, y las medidas espectrofotométricas pueden alcanzar una precisión de  $\pm 2 \%$ . La determinación colorimétrica, por el contrario, viene afectada de un error de  $\pm 20\%$ , para concentraciones comprendidas entre 2 y 30 gammas por  $\text{cm}^3$ .

## CONCLUSIONES

1. La alfa-naftilamina carece de especificidad para la reacción colorimétrica de la nicotina y BrCN.
2. Ligeras variaciones en el pH del medio afectan sensiblemente

a la formación óptima del compuesto coloreado, incluso con el empleo del isómero beta.

3. Esa influencia es mayor aún en el caso de variaciones en la concentración de BrCN. Las concentraciones óptimas de éste se encuentran por encima del límite de solubilidad en los disolventes utilizados para la reacción.

4. La reacción colorimétrica es válida únicamente para disoluciones de nicotina comprendidas entre 2 y 30  $\gamma/\text{cm}^3$ , y el error de la determinación es superior al medianamente permisible.

**BIBLIOGRAFIA**

- (1) Ollero Gómez, A. y Cota Galán, R., *An. R. Soc. de Fis. y Quim.*, 50 B, 413-30, (1954).
- (2) König, W., *Z. Angew. Chem.*, 18, 115, (1905).
- (3) König, W., y Bayer, J. *Prakt. Chem.*, 83, 325-8, (1911); (C.A. 2815 (1911)).
- (4) Barta, L., *Biochem. Z.*, 277, 412-15, (1935); (c.A., 4696, (1935)).
- (5) Markwood, N., *J. Assoc. Off. Agr. Chem.*, 22, 427-36, (1939); (*The Analyst*, 66, (1939)).
- (6) Official Methods of Analysis of de Association of Official Agricultural Chemists, p. 95, (1960).
- (7) Popovici, (Monogr. L. Castro, Univ. Sevilla).
- (8) Von de Grazia, J., *Fach. Mitt. Oest. Tabakregie*, 3, 839, (1910); (C.A., 2507, (1911)).
- (9) Toole, *Z. Anal. Chem.*, 93, 188-94, (1933); (C.A., 1305, (1934)).
- (10) Semerano, G., *Giornale Chim. Ind. Applicata*, 14, 608-14, (1932); (C.A., 2066, (1933)).
- (11) Wenger, P.E., *Anal. Chim. Acta*, 5, 22 - 7, (1951).
- (12) Volke, J., y Volkora, V., *Chem. Listy*, 48, 1.031-8, (1954).
- (13) De Angelis, G., *Ricerca Sci.*, 21, 62-7, (1951).
- (14) Dezelic, M., y Stanic, B., *Arch. Kem.*, 25, 141-50, (1953); (C.A., 46, (1954)).
- (15) Ripan-Tilice, y Aristeia, F., *Z. Unters. u. Lebens.* 76, 44-51. (1938); (C.A., 9391, (1938)).
- (16) Daftary, R.D., y Haldar, B.C., *An. Chim. Acta*, 25, 538-41, (1961).
- (17) Quin, L.D., y Pappus, N.A., *J. Agr. Food Chem.*, 10, 79-82. (1962).
- (18) Curry, A.S., y Broel, H., *Nature*. 173, 1143-4, (1954).
- (19) Hoffmann, E., *Arch. Hug. Bakt.*, 128, 179-86, (1942); (C.A., 42 (1945)
- (20) Willits, C.O., Swain, M.L., Connely, J.A., y Brice, B.A., *Anal. Chem.*, 22, 430-3, (1950).
- (21) Willaman, J.J., *Ind. Eng. Chem.*, 44, 270-3. (1952).
- (22) Moorthy, B.R., Chatterjee, B.G., Dakshinamusti, C., y Gulatti, K. C., *Nature*, 169, 112, (1952).
- (23) Schwartzman, G., *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists*, 41, 566-7, (1958).
- (24) Hoffmann, R., *Bul. Tutunului*, 16, 357, (1932); (C.A. 3288, (1933)).
- (25) Takenchi, M. y Kikami, K., *J. Nara Med. Assoc.*, 3, 10-12, (1952); (C.A. 47, (1953)).

- (26) Ghezzi, G., *Ann. Chim.*, 43, 48-54, (1953); (*C.A.*, 8969, (1953) ).
- (27) Asmus, E., y Papenjus, D., *Z. Anal. Chem.* 185, 201-11, (1962); (*C.A.*, (1963) ).
- (28) Asmus, E., Hohne, R. y Kraeetsch, *Z. Anal. Chem.*, 187, 33-7, (1962) (*C.A.*, (1963) ).
- (30) Cuzin, J., y Schwarz, *Ann. Inst. Expt. Tabac. Bergerac*, 1, N.º 3, 61-9 (1952); (*C.A.*, (1954) ).
- (29) Yamamoto, E., Takeuchi, M. y Tsujimoto, A., *Folia Pharmacol. Japan.*, 50, 1-70, (1954); (*C.A.*, (1954) ).
- (31) Corcoran, A.C., Helmer, O.M., y Page, I.H., *J. Biol. Chem.*, 129, 89-97, (1939); (*The Analyst*, 757, (1939) ).