

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
Facultad de Química y Farmacia



DETERMINACION DEL CONTENIDO DE NICOTINA
EN EL TABACO DE CIGARRILLOS NACIONALES

Trabajo de Graduación

PRESENTADO POR:

Isabel Mercedes Urquilla Bermúdez

PARA OPTAR AL TITULO DE:

**LICENCIADA EN QUIMICA
Y FARMACIA**

Julio de 1985

San Salvador, El Salvador, Centroamérica.



T
615-952379
V796

Ej. 2

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR: Dr. Miguel Angel Parada

SECRETARIO: Dra. Ana Gloria Castaneda de Montoya

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANO: Dra. Amelia Rodríguez de Cortez

SECRETARIO: Dra. Aminta Aceituno de Kafie



A S E S O R:

Dra. Gloria Luz de Pocasangre

JURADO DE TESIS:

Dra. María Leonor Callejas

Lic. Rita Evelyn Roque de Calixto

Lic. Angel de Jesús Dinarte Rubio

DEDICO ESTA TESIS^:

A DIOS TODOPODEROSO

A LA MEMORIA DE MI PADRE:

Carlos Urquilla
Quien me dió la base para la
formación de mis ideales.

A MI ABNEGADA MADRE:

María Elia de Urquilla
Con profundo amor y agradeci-
miento por su ayuda efectiva,
y dedicación en mi preparación
intelectual.

A MI ESPOSO:

Juan Ramón Romero
Por el amor y apoyo constante
recibidos durante mi carrera.

A MI HIJO:

Juan Carlos Romero Urquilla
Por ser la fuente de inspiración
de mi vida.

A G R A D E C I M I E N T O S

A la Doctora Gloria Luz de Pocasangre.

Por su orientación en el desarrollo
de este trabajo.

A la Doctora Marfa Leonor Callejas
Lic. Rita Evelyn Roque de Calixto y
Lic. Angel de Jesús Dinarte Rubio

Por la revisión y coordinación de
este trabajo.

A la Doctora Miriam Nosthas de Herrera

Por su desinteresada colaboración
en la redacción de este trabajo y
constante animación.

I N D I C E

	<u>Página</u>
OBJETIVOS	i
INTRODUCCION	ii
I ASPECTOS TEORICOS	
1. Historia del aislamiento de la Nicotina	1
2. Descripción botánica del tabaco	1
3. Química de la Nicotina	4
4. Cultivo del tabaco en El Salvador	6
5. Fabricación de cigarrillos	7
6. Efectos nocivos del hábito de fumar cigarrillos	9
II PARTE EXPERIMENTAL	
1. Metodología	14
2. Material, equipo y reactivos	14
3. Obtención de las muestras	15
4. Determinación del contenido de Nicotina	15
5. Método espectrofotométrico	19
III RESULTADOS	20
IV CALCULOS	26
V DISCUSION	34
VI CONCLUSIONES	35
VII RECOMENDACIONES	36
VIII BIBLIOGRAFIA	37
IX A N E X O S	40

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

	<u>Página</u>
1. TABLA No. 1: Composición química de las hojas del tabaco	3
2. FIGURA No. 1: Proceso general de fabricación de cigarrillos	8
3. FIGURA No. 2 Separación cromatográfica en capa fina de una marca de cigarrillos	21
4. FIGURA No. 3: Espectro de absorción ultravioleta de Nicotina químicamente pura sin previa cromatografía en capa fina a una concentración de 4.0×10^{-2} mg/ml en cloroformo. Máxima longitud de onda a 260 nm.	22
5. FIGURA No. 4: Espectro de absorción ultravioleta de Nicotina, se- parada de la marca No. 8 por cromatografía en capa fina. Máxima longitud de onda a 260 nm	23
6. TABLA No. 2: Absorbancia de Nicotina standar a distintas concen- traciones	24
7. FIGURA No. 5: Curva de calibración de la Nicotina standar	25
8. TABLA No. 3: Concentración de Nicotina en las marcas de cigarri- llos analizados, usando la curva de calibración	26
9. TABLA No. 4: Concentración de Nicotina standar para cada marca de cigarrillo	31

10.	TABLA No. 5 Cuantificación de Nicotina en 16 marcas de cigarrillos, usando standar de referencia	32
11.	TABLA No. 6 Resumen de las determinaciones realizadas a 16 marcas de cigarrillos	33
12.	TABLA No. 7 Resultados de absorbancias obtenidas en las marcas de cigarrillos	43
13.	TABLA No. 8 Desviación standar para los valores de absorbancias	44

OBJETIVOS

O B J E T I V O S

1. Determinar el contenido de Nicotina que presentan el tabaco de 16 marcas de cigarrillos, fabricados en El Salvador, usando la técnica Cromatográfica de capa fina y el método Espectrofotométrico.
2. Establecer una comparación, entre los valores de Nicotina encontrados y los valores que presentan las normas internacionales.

INTRODUCCION

INTRODUCCION

La finalidad del presente trabajo obedece a que, siendo el tabaco un producto que afecta la salud del consumidor, no se ha prestado la debida atención a la cuantificación de la nicotina en los cigarrillos que se consumen en el país.

La nicotina, alcaloide derivado de la piridina, es entre los constituyentes del tabaco, una sustancia tóxica al ser humano, por tanto se consideró necesario determinar la cantidad que contienen 16 marcas de cigarrillos salvadoreños.

La separación y cuantificación de la nicotina se realizó siguiendo la técnica Cromatográfica de capa fina y el método Espectrofotométrico en la región ultra-violeta. Los análisis experimentales se efectuaron en el laboratorio del Departamento de Análisis Químico e Instrumental, de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.

Para complementar la información se incluyen datos históricos y botánicos del tabaco, conocimientos químicos de la nicotina y referencias de ciertas enfermedades que se desarrollan con el hábito del fumado.

I - ASPECTOS TEORICOS

I - ASPECTOS TEORICOS

1. HISTORIA DEL AISLAMIENTO DE LA NICOTINA

El tabaco fue encontrado por los primeros exploradores de América como una especie que cultivaban los indígenas y que lo utilizaban para fumar.

"En 1520 fue introducido en España por considerarlo como planta medicinal. De España pasó a Portugal, luego a Francia y al resto de Europa" (5). La planta del tabaco se llamó Nicotiana en honor a Jean Nicot , quien introdujo el tabaco en Europa; tabacum proviene del nombre indígena "pipa" o tubo utilizado para fumarlo.

La composición química del tabaco es muy compleja: contiene ocho alcaloides piridínicos siendo la Nicotina el más abundante y la principal sustancia activa que tiene el tabaco.

"En 1828 la Nicotina fue aislada de las hojas del tabaco por Poseelt y Reiman. En 1843, Orfila efectuó los primeros estudios farmacológicos y Langley y Dickinson describieron las acciones de la Nicotina sobre los ganglios autónomos en 1889" (13).

La Nicotina no tiene aplicación terapéutica, sin embargo, su gran toxicidad y su existencia en el tabaco le dan gran importancia médica.

2. DESCRIPCION BOTANICA DEL TABACO

"El tabaco pertenece a la familia de las solanáceas y al género Nicotiana. Todas las formas cultivadas pertenecen a dos especies:

Nicotiana tabacum y Nicotiana rústica, siendo la primera la principal fuente de tabaco que se encuentra en el comercio". (14).

La Nicotiana tabacum, es una planta que alcanza dos metros de altura, con un número de hojas entre veinticinco y treinta. Las hojas individuales son de unos sesenta centímetros de largo y de unos veinticinco centímetros de ancho, alargadas lanceoladas. El fruto es una cápsula ovoide de 2 centímetros de largo, con dos divisiones, que encierran numerosas y pequeñas semillas. Su ciclo biológico dura de 4 a 5 meses y termina con la floración.

La Nicotiana rústica, es una planta mucho más pequeña que la Nicotiana tabacum que, generalmente, no excede de un metro de altura; las hojas son pecioladas, gruesas, pesadas y ovaladas o alargadas. Se cultiva como fuente de nicotina que se usa como insecticida. En El Salvador esta especie no es cultivada. Las hojas inferiores son las que comienzan a madurar; generalmente, las primeras 3 ó 4 hojas de esta zona de la planta son las que dan punto para su corte. Nunca la planta madura en forma uniforme. El color que presentan es amarillento verdoso, y es cuando hay que cortarlas para evitar que, al continuar madurando, pierdan peso y al mismo tiempo su calidad.

Todas las partes de la planta del tabaco contienen Nicotina, pero la concentración es mayor en las hojas centrales, su proporción varía de 0.5% a 8% en la Nicotiana tabacum y de 5% a 14% en la Nicotiana rústica.

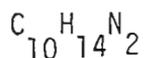
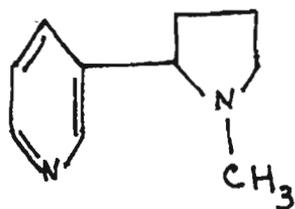
En la Tabla No. 1, se encuentran agrupadas las sustancias químicas que contienen las hojas que se utilizan para la fabricación de cigarrillos, las cuales están privadas de nervios y curadas. (16).

TABLA No. 1 - COMPOSICION QUIMICA DE LAS HOJAS DEL TABACO

Componentes	g/100 g. de tabaco	
Nicotina	1.0	- 2.9
Amoníaco	0.01	- 0.1
Glutamina	0.02	- 0.04
Asparagina	0.01	- 0.1
Nitrógeno Amínico	0.06	- 0.2
Nitrógeno Proteínico	0.9	- 1.7
Nitrógeno como Nitrato	0.08	- 1.7
Acido Acético	0.09	- 0.1
Acido Fórmico	0.02	- 0.07
Acido Málico	2.4	- 6.7
Acido Cítrico	0.7	- 8.2
Acido Oxálico	0.8	- 3.1
Aceites volátiles	0.1	- 0.2
Dextrrosa	0.2	- 22.0
Pectato de calcio	6.1	- 12.1
Oxido de calcio	2.2	- 8.0
Oxido de potasio	2.3	- 5.2
Oxido de magnesio	0.3	- 1.2
Cloro	0.2	- 0.8

3. QUIMICA DE LA NICOTINA

Por su estructura química la Nicotina es un alcaloide no oxigenado, derivado de la piridina, posee en su fórmula un núcleo piridínico y otro pirrólico.



P.M = 162.23 g/mol.

" El nombre químico de la Nicotina es: 1-metil-2-(3-piridil) pirrolidina. " (22).

PROPIEDADES FISICAS:

" La Nicotina se presenta como un líquido oleoso, denso ($D = 1.009$), volátil, higroscópico, con un punto de ebullición igual a $247^{\circ}C$ y posee un olor que recuerda a la piridina y un sabor ardiente extremadamente acre. Es soluble en : agua, alcohol, cloroformo, éter y aceites grasos". (7)

PROPIEDADES QUIMICAS:

La Nicotina es sensible a la luz y al aire, en contacto con ellos se oscurece.

Se oxida con Acido Nítrico transformándose en el Acido Nicotínico (Niacina).

La Nicotina cuando se mezcla con ácidos se producen sales. Las sales simples no se cristalizan fácilmente, ya que la mayor parte de ellas son higroscópicas. Otras sin embargo, como benzoatos, oxalatos, silicatos y tartratos, son sólidos cristalinos y estables en condiciones atmosféricas.

REACCIONES DE IDENTIFICACION:

Reacciones Generales:

Debido a la naturaleza básica, la Nicotina precipita los metales pesados de sus soluciones y forma sales sencillas y dobles bien características, como el Clorhidrato de Nicotina ($C_{10}H_{14}N_2HCl$), el Cloroplatinato ($C_{10}H_{14}N_2HCl$)PtCl₄.

Con el reactivo de Mayer (iodomercuriato de potasio) precipita la sal doble de $(C_{10}H_{14}N_2 \cdot HI)_2HgI_2$.

En particular, las soluciones de Nicotina precipitan con el ácido Silicotungstico, formando cristales blancos.

REACCIONES ESPECIFICAS:

"Reacción de Roussin: Adicionar a una solución etérea de Nicotina al 1% un volumen igual de solución etérea de yodo y se produce un precipitado oleoso de color pardo rojizo, formándose enseguida unas agujas cristalinas de color negro azulado" (5).

"Reacción de Schindelmeister: A 1 cc de solución acuosa de Nicotina al 1% adicione 1 gota de formaldehído al 30% y 40 gotas de ácido nítrico, agite la mezcla, después de unos minutos, aparecerá una coloración rojiza". (4).

"Reacción de Vainillín-Clorhídrico: Disolver 0.4 g. de vainillina pura en 100 cc de ácido clorhídrico . Colocar en un tubo de ensayo 1 cc del reactivo anterior; luego adicionar 10 gotas de solución de Nicotina por las paredes del tubo, se observará la aparición de un anillo de color rosado en la interfase y por agitación se difunde en toda la fase líquida" (4).

4. CULTIVO DEL TABACO EN EL SALVADOR

"En El Salvador se cultivan tres tipos de tabacos: Burley, Rubio y Sombreado. Todos pertenecientes a la especie Nicotiana tabacum, pero difieren entre sí por el tipo de semilla cultivada y las condiciones de curado". (2).

Cada año al cultivo se le han añadido nuevas prácticas agronómicas que permiten mantenerlo como uno de los cultivos más rentables a corto plazo. Existiendo un contrato entre la fábrica de cigarrillos y el cultivador de tabaco, la fábrica señala las recomendaciones a seguir con respecto al cultivo, con el propósito de mejorar la calidad del tabaco.

La parte de valor comercial de la planta es la hoja. Para adquirir las hojas de la más alta calidad, el fabricante establece varias

características observables que son: posición en la planta, largo y grosor, color, textura, madurez, aroma y presencia de manchas.

5. FABRICACION DE CIGARRILLOS

Cada marca de cigarrillos está formada por diferentes tipos y calidades de tabacos. Esta mezcla desempeña un importante papel en la aceptación final del producto por parte del consumidor.

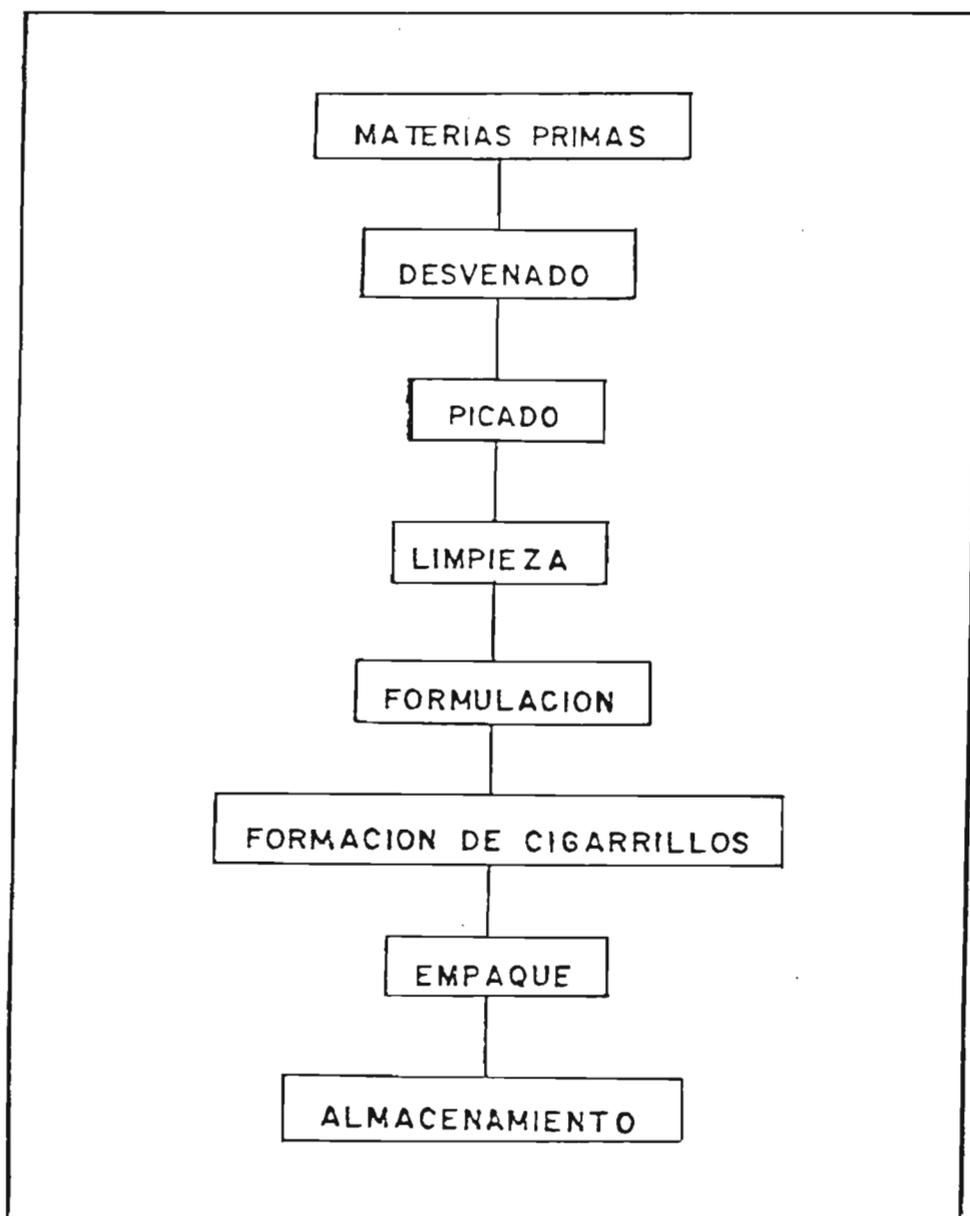
Durante la elaboración de cigarrillos, el tabaco es sometido a diferentes operaciones, que se encuentran representadas en la Figura No. 1.

Los controles de calidad en una industria de este tipo abarca los análisis químicos y los físicos, dependiendo de las exigencias y especificaciones con que la fábrica en particular trabaje. Uno de los análisis químicos que se considera de gran importancia, es de especificar los límites de las sustancias que más contribuyen a los daños de la salud. "Según los expertos estos componentes son: la Nicotina, el Monóxido de Carbono y el Alquitrán".(20) "El contenido de Nicotina para los tabacos de fumar es de 1 a 2%" (13).

En muchos países tales como Australia, Canadá, Estados Unidos han reducido la concentración de Nicotina. Por ejemplo en Inglaterra el Colegio de Médicos recomendó el límite máximo de Nicotina por cigarrillos de 1 mg. "En Alemania se fabrican cigarrillos con 0.1% de Nicotina, y son designados como libres de Nicotina". (12)

Los niveles de Nicotina en el humo depende de la cantidad de Nicotina en el tabaco, de la longitud que tiene el cigarrillo, de las ca-

FIGURA No.1

PROCESO GENERAL DE FABRICACION
DE CIGARRILLOS (2T)

características del filtro, etc.

Los cigarrillos salvadoreños no llevan una advertencia médica ni dan a conocer al consumidor la cantidad que contienen de Alquitrán y Nicotina.

6. EFFECTOS NOCIVOS DEL HABITO DE FUMAR CIGARRILLOS

Las primeras contribuciones verdaderamente importantes a la literatura médica sobre los peligros del hábito de fumar aparecieron hace unos treinta y cinco años en Gran Bretaña y los Estados Unidos, basados en dos grandes encuestas en donde se demostró que el 80% de los enfermos de cáncer pulmonar eran fumadores de cigarrillos; gracias a estos estudios quedó plenamente demostrada la relación entre el hábito de fumar y el cáncer del pulmón. Puede darse el caso que el cáncer pulmonar ocurra en personas que nunca han fumado pero "la frecuencia de la enfermedad llega a ser veinte veces mayor entre las personas que fuman cigarrillos" (20).

Los servicios de salud pública de los Estados Unidos han publicado una serie de informes mucho más detallados sobre los efectos nocivos del hábito de fumar. En los países donde estos efectos han sido investigados a fondo, nadie pone en duda que tales efectos sean una realidad.

Las enfermedades que más prevalecen relacionadas con el hábito de fumar son: cáncer de pulmón, bronquitis crónica, enfisema pulmonar,

enfermedades cardíacas, cáncer de lengua, laringe, esófago, úlcera péptica y trastornos en el embarazo.

- CANCER DE PULMON:

En estudios necrópsicos hechos a sujetos fumadores, se observa que tienen en sus bronquios amplias modificaciones metaplásicas de carácter canceroso, estas modificaciones están relacionadas con el número de cigarrillos fumados, profundidad de la inhalación del humo, edad en la que comenzó el hábito de fumar.

- BRONQUITIS Y ENFISEMA PULMONAR:

El humo del tabaco contiene numerosas sustancias irritantes que se oponen a la función de los cilios de la mucosa bronquial. Estas sustancias irritantes son la causa de la tos y de la broncoconstricción, también es la causa de la hipertrofia de las glándulas mucosas, que empiezan a segregar cantidades excesivas de moco, que se eliminan con la expectoración. Este exceso de moco y la parálisis de los cilios bronquiales disminuye las defensas del pulmón, con lo cual los fumadores están más expuestos a las infecciones bronquiales. La tos y la expectoración dependen estrechamente del número de cigarrillos fumados. Si se deja de fumar estos síntomas desaparecen rápidamente.

- ENFERMEDADES CARDIACAS:

En base a pruebas y estudios se creó una lista de factores de riesgo en las enfermedades cardiovasculares. Se incluyen como factores prin-

cipales la edad, sexo masculino, hipertensión, tabaquismo, colesterol plasmático y glucosa en sangre.

El consumo de cigarrillos ejerce dos efectos farmacológicos: estimulante y depresor.

Cuando la estimulación llega a la médula adrenal se produce liberación de catecolaminas por las glándulas suprarrenales, lo que trae como consecuencias aumento de la presión arterial, taquicardia y arritmias cardíacas. Así mismo se ha demostrado que la liberación de catecolaminas aumenta la adhesividad de las plaquetas favoreciendo la trombosis, aumenta la concentración de los lípidos sanguíneos que favorecen la formación de ateroma. * Estos estudios hacen pensar que el hábito de fumar contribuye al proceso aterosclerótico como al ataque cardíaco y que determina su desenlace fatal.

- CANCER DE LA LENGUA, LARINGE Y ESOFAGO:

Dependiendo de la profundidad de la inhalación del humo del tabaco da como resultado un mayor o menor grado de absorción en los pulmones, pero sistemáticamente el menor grado de absorción es en la lengua, la laringe y esófago. El desarrollo del cáncer en estas zonas depende de una exposición prolongada al humo de cigarrillos y más frecuentemente entre los fumadores que en los no fumadores.

* Ateroma: acumulación de lípidos, quiste.

- ULCERA PEPTICA:

" De los muchos factores ambientales que se han sospechado como posibles causas contribuyentes de úlcera péptica, el único que se ha estudiado es el fumado de cigarrillos. Todos los estudios demuestran que los fumadores tienen más úlceras gástricas y duodenales." (25).

El humo del tabaco altera el equilibrio entre las secreciones ácida y alcalina y perturba la motilidad pilórica provocando el reflujo duodenal gástrico; lo que guarda relación con la acción ulcerógena.

Los trastornos que se observan en los enfermos con úlceras digestivas, cuando fuman son: aumenta su dolor, la terapéutica antiácida es menos eficaz y se retrasa la cicatrización de las úlceras.

- TRASTORNOS EN EL EMBARAZO:

Las principales consecuencias del hecho de que la madre fume durante el embarazo son: retraso del crecimiento fetal, fallecimiento perinatal, escaso peso corporal, probabilidades de aborto y parto de feto muerto o de mortalidad neonatal.

Se ha sugerido la posibilidad de que en el escaso peso al nacer influyen diversos mecanismos, pero no se conoce la intervención de cada uno de ellos. Pueden citarse a ese respecto la influencia tóxica directa del monóxido de carbono, de la nicotina, o la de algún otro ingrediente del humo del tabaco; un efecto secundario es la nutrición deficiente de la madre y otros.

Si la madre renuncia a fumar al comienzo de la gestación, todos los efectos serán anulados porque la relación que se guarda es con el número de cigarrillos fumados durante el embarazo, y no con el de los fumados con anterioridad.

II - PARTE EXPERIMENTAL

II - PARTE EXPERIMENTAL

1. METODOLOGIA

La nicotina presente en las muestras del tabaco de las diferentes marcas de cigarrillos, primeramente se le extrae con un solvente adecuado. Luego al extracto se le separa la nicotina usando la técnica de cromatografía en capa fina y posteriormente se evalúa cuantitativamente mediante espectrofotometría ultravioleta.

2. MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS:

A) Material:

- Balones volumétricos de 10 ml y de 100 ml.
- Beakers de diferentes medidas
- Cromatofolios Merck, de sílica gel 60F 254 nm, 0.25 mm de espesor.
-
- Cámaras de vidrio para cromatografía (para placas 20 x 20)
- Espátula de acero inoxidable
- Micro jeringas
- Pipetas volumétricas
- Probetas de diferentes volumen
- Tubos de ensayo

B) Equipo:

- Balanza analítica, Mettler, tipo H6
- Cámara con luz ultravioleta, 254 nm

- Centrífuga
- Espectrofotómetro de doble haz, Perkin Elmer, Coleman 124
- Horno Telco (0°- 300°)
- Refrigeradora
- Vibrador

C) Reactivos:

- Amoníaco
- Cloroformo
- Metanol
- Nicotina base (estándar de referencia)

3. OBTENCION DE LAS MUESTRAS:

Las muestras analizadas son de fábricas salvadoreñas y fueron obtenidas en los lugares de expendio al público de la ciudad capital. Dichas muestras se tomaron al azar analizándose 16 marcas de cigarrillos, ca da marca analizada estaba compuesta por cinco cajetillas escogidas de diferentes paquetes. Los nombres de las marcas se omiten por razones obvias.

4. DETERMINACION DEL CONTENIDO DE NICOTINA

4.1.- PREPARACION DE LAS MUESTRAS PARA ENSAYO:

- a) Se reunió y mezcló el tabaco de cinco cajetillas (100 cigarrillos) de una misma marca.
- b) Se trituroó todo el tabaco obtenido y luego se mezcló uniformemente.

- c) Se pesó analíticamente cuatro muestras de 1 gramo aproximadamente, de una misma marca.

4.2. - EXTRACCION DE LA NICOTINA DEL TABACO:

- a) El gramo de muestra pesado analíticamente se coloca en un tubo de ensayo con tapón hermético. Transferir con pipeta volumétrica 10.0 ml de cloroformo.
- b) Dejar macerar durante 48 horas, en refrigeración y protegido de la luz.
- c) Terminada la maceración, se homogeniza con agitación y se filtra. Transferir parte de la solución a un tubo de ensayo de 5 ml con cierre hermético.

4.3. - PREPARACION DE LA SOLUCION ESTANDAR:

- a) Medir una alícuota de 0.5 ml de Nicotina base, químicamente pura y luego aforar a 100 ml con cloroformo.

4.4. - TECNICA: CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA, PARA LA SEPARACION DE LA NICOTINA:

A. FUNDAMENTO:

"La cromatografía es un método físico-químico fundamentado en la separación de los componentes de una mezcla"(10) Permite

separar un compuesto de sus impurezas y fraccionar los componentes de una mezcla, ya que depende de la migración selectiva y diferencial de los solutos a través de un sistema de dos fases (una sólida y otra fluida). La fase sólida se llama adsorbente y es estacionaria, la fase líquida se llama eluyente y es móvil.

Debido a la gran cantidad de compuestos presentes en las hojas de tabaco es necesario aislar la Nicotina antes de proceder a su evaluación cuantitativa, en este caso la cromatografía en capa fina es el medio utilizado para separar la Nicotina.

La Nicotina es identificada por comparación con la distancia recorrida por un patrón de Nicotina y por el R_f de la Nicotina en el medio utilizado. El R_f para cromatografía en capa fina se define de la siguiente manera:

$$R_f = \frac{\text{Dist. recorrida por la muestra}}{\text{Dist. recorrida por el solvente}}$$

Esta misma determinación es usada para encontrar la cantidad de Nicotina separada, mediante la comparación contra patrones de concentración conocida (curva de calibración).

B. PROCEDIMIENTO:

- a) Activación de los cromatofolios

- b) Preparación de la cámara cromatográfica con el solvente desarrollador, que es una mezcla de: cloroformo-metanol-amoníaco (60:10:1)
- c) Se aplicó en el cromatofolio de sílica gel los extractos de muestra en un volumen de 200 microlitros (0.2 ml) y de la solución st. de Nicotina al 0.5% un volumen entre 0.03 ml y 0.06 ml.
- d) Se introduce el cromatofolio en la cámara cromatográfica.
- e) El solvente desarrollador corrió una altura de 17 cm.
- f) Después que el solvente desarrollador alcanzó la altura de 17 cm en el cromatofolio, tiempo aproximado de 40 minutos, se sacó el cromatofolio y se dejó que se secara a temperatura ambiente.
- g) Se reveló el cromatofolio bajo luz ultravioleta a 254 nm y se marcaron las posiciones correspondientes a las manchas de Nicotina.
- h) Se recortaron las manchas reveladas de Nicotina, tanto de las muestras como la del st. y una área de sílica gel del tamaño de la muestra para preparar el blanco.
- i) Se transfirió cada mancha y el blanco a un tubo de centrifuga graduado y se aforó a 10 ml con cloroformo. Se tapa bien el tubo y se centrifugó durante 20 minutos.

5. METODO ESPECTROFOTOMETRICO EN LA REGION ULTRAVIOLETA.

A. FUNDAMENTO:

La evaluación cuantitativa de la Nicotina mediante espectrofotometría ultravioleta requiere que este alcaloide se encuentre en solución.

La fracción de luz incidente que es absorbida por la muestra, es proporcional al número de moléculas encontradas en su camino. Esta relación se observa de manera experimental en la mayoría de las situaciones analíticas y está representada por la ley de Beer.

B. PROCEDIMIENTO:

- a) Se colocó cada solución sobrenadante en celdas de cuarzo de 1 cm de espesor.
- b) Se leyeron las absorbancias de las muestras y el st. contra el blanco, a una longitud de onda de 260 nm, en el Espectrofotómetro.

III - RESULTADOS

III - RESULTADOS

1. RESULTADOS CROMATOGRÁFICOS.

En la Figura No. 2, se observa uno de los resultados obtenidos en el procedimiento cromatográfico de una marca de cigarrillos. Igual resultado fue observado en los otros análisis de marcas de cigarrillos.

El grado de retención se acostumbra a expresar como el Factor de retardación o Factor de rotación o R_f . El valor aproximado del R_f para las muestras de Nicotina es igual a 0.58.

2. RESULTADOS ESPECTROFOTOMÉTRICOS

Primeramente se corre el espectro de absorción en la región ultravioleta de la Nicotina st., Figura No. 3, y el de la Nicotina separada de una marca de cigarrillos, Figura No. 4, para determinar la longitud de onda de máxima absorción de la Nicotina que resultó a 260 nm.

Para saber en que rango de concentraciones la Nicotina cumple con la ley de Beer, se procede a determinar la absorbancia de una serie de soluciones de diferentes concentraciones. La absorbancia de cada solución, se grafica en la ordenada, en función de su correspondiente concentración, en las abscisas, Tabla No. 2 y Figura No. 5.

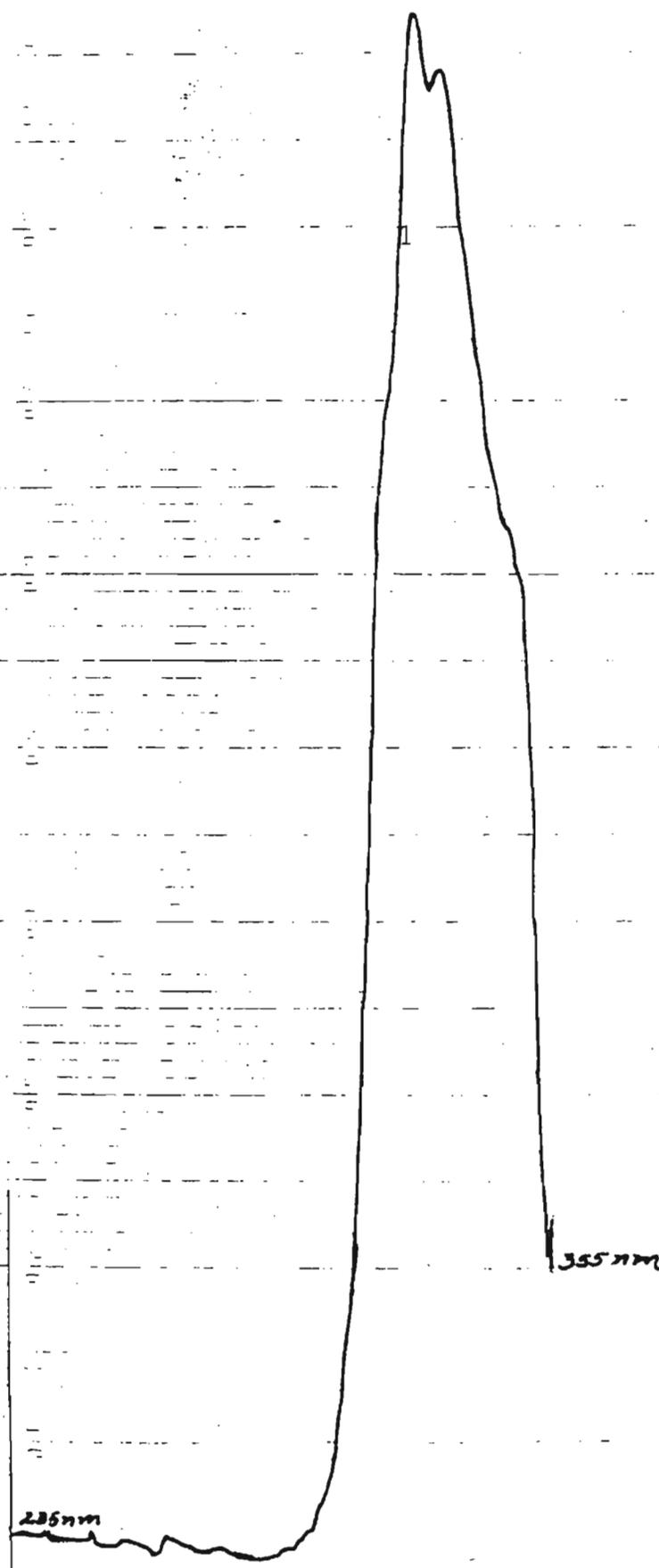
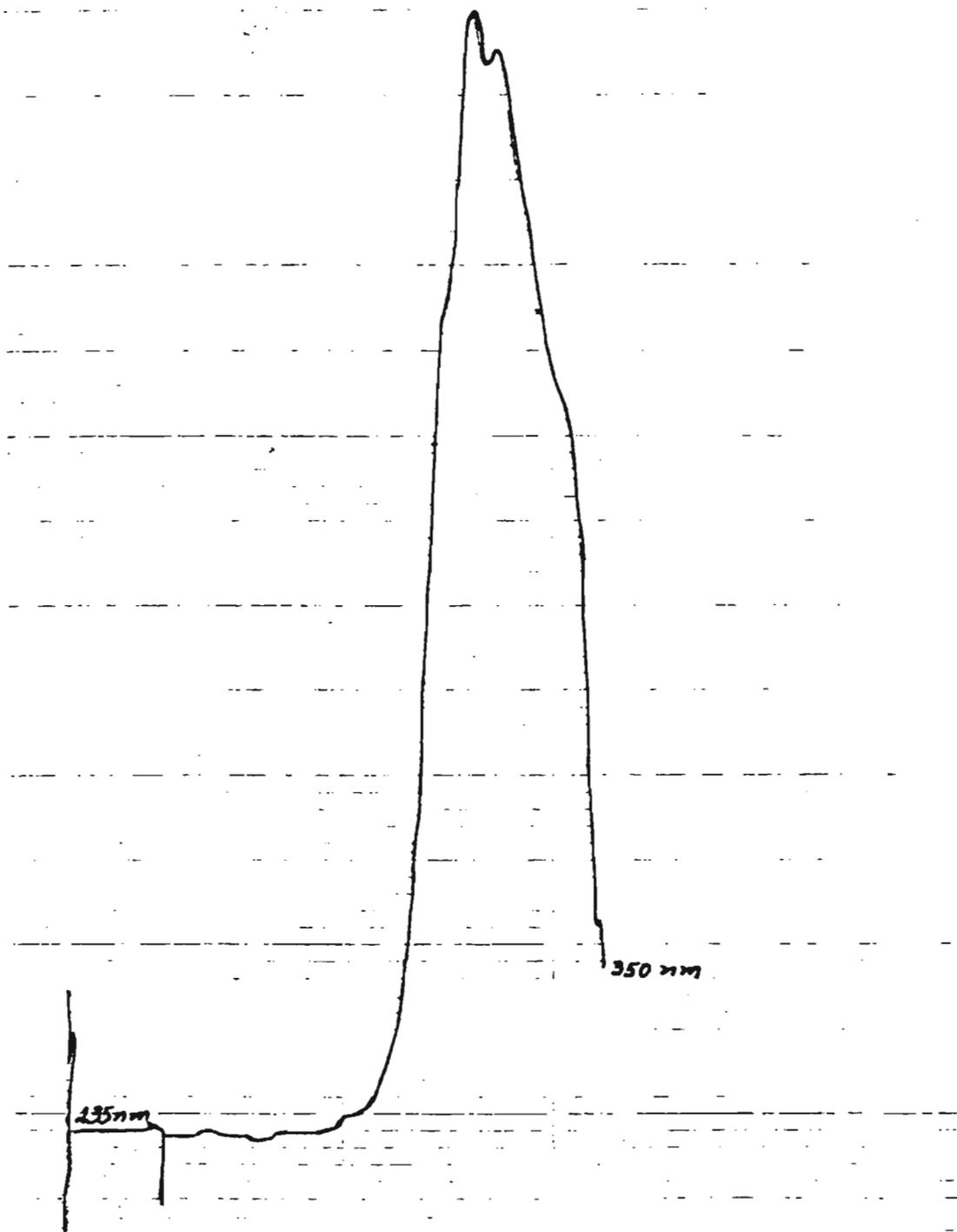


FIGURA No. 3 ESPECTRO DE ABSORCION ULTRAVIOLETA DE NICOTINA QUIMICAMENTE PURA SIN PREVIA CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA A UNA CONCENTRACION DE 4.0×10^{-2} mg/ml EN CLOROFORMO. MAXIMA LONGITUD DE ONDA A 295 nm



PERKIN-ELM

FIGURA No. 4 ESPECTRO DE ABSORCION ULTRAVIOLETA DE NICOTINA, SEPARADA DE LA MARCA No. 8 POR CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA . MAXIMA LONGITUD DE ONDA A 260 nm

En la curva de calibración de la Nicotina, Figura No. 5, se obtiene una línea recta en el rango de concentraciones entre 0.5×10^{-2} mg/ml a 5.0×10^{-2} mg/ml, entonces se dice que el compuesto obedece a la ley de Beer.

La concentración de Nicotina en mg/ml de las marcas de cigarrillos analizadas se calcula planteando la absorbancia de la muestra en la curva de calibración. Para que los cálculos resulten más seguros se construye una curva de calibración para cada dos marcas analizadas. La Tabla No. 3, recopila los datos obtenidos.

TABLA No. 2

ABSORBANCIA DE NICOTINA ESTANDAR A DISTINTAS CONCENTRACIONES.
LONGITUD DE ONDA MAXIMA A 260 nm.

Concentración mg/ml	Absorbancia
0.5×10^{-2}	0.09
1.0×10^{-2}	0.20
1.5×10^{-2}	0.28
2.0×10^{-2}	0.38
2.5×10^{-2}	0.47
3.0×10^{-2}	0.57
3.5×10^{-2}	0.65
4.0×10^{-2}	0.75
4.5×10^{-2}	0.83
5.0×10^{-2}	0.93

FIGURA No. 5

CURVA DE CALIBRACION DE LA NICOTINA-ESTANBARD

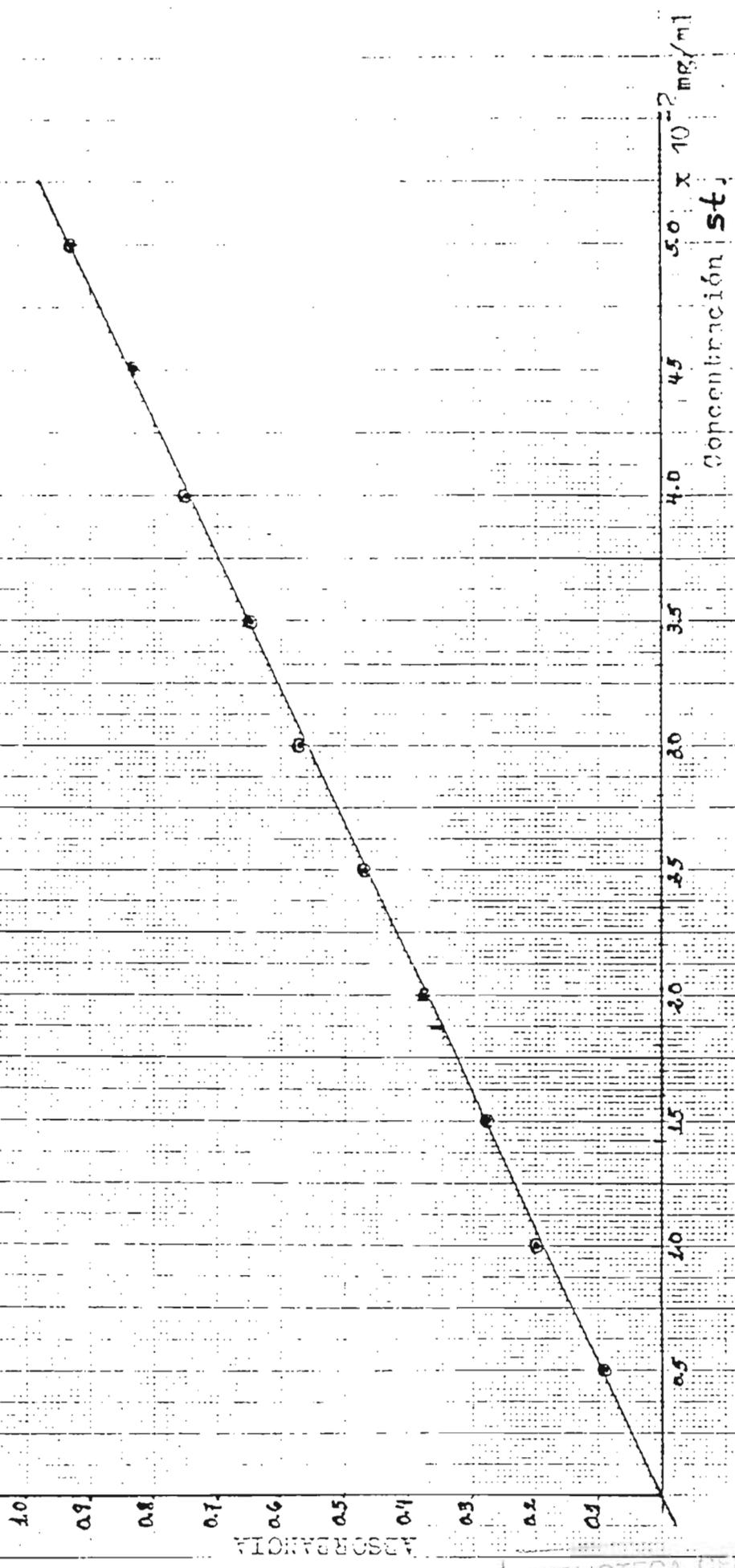


TABLA Nº 3

CONCENTRACION DE NICOTINA EN LAS MARCAS DE CIGARRILLOS
ANALIZADAS USANDO LA CURVA DE CALIBRACION.

Nº DE MARCA.	ABSORBANCIA* PROMEDIO DE - LAS MUESTRAS.	CONCENTRACION DE NICOTINA mg/ml.	mgs. DE NICOTINA EN PESO DE MUES- TRA ANALIZADA.
1	0.37	1.97×10^{-2}	9.85
2	0.44	2.35×10^{-2}	11.75
3	0.57	3.05×10^{-2}	15.25
4	0.42	2.25×10^{-2}	11.25
5	0.46	2.47×10^{-2}	12.35
6	0.52	2.75×10^{-2}	13.75
7	0.58	3.10×10^{-2}	15.55
8	0.62	3.30×10^{-2}	16.50
9	0.27	1.40×10^{-2}	7.00
10	0.42	2.25×10^{-2}	11.25
11	0.42	2.25×10^{-2}	11.25
12	0.48	2.57×10^{-2}	12.85
13	0.44	2.35×10^{-2}	11.75
14	0.43	2.30×10^{-2}	11.50
15	0.38	2.02×10^{-2}	10.10
16	0.35	1.87×10^{-2}	9.35

* Cada absorbancia es el promedio de cuatro determinaciones.

IV - C A L C U L O S

1. CALCULOS PARA DETERMINAR EL CONTENIDO DE NICOTINA USANDO LA CURVA DE CALIBRACION

Para determinar el contenido de Nicotina en peso de muestra analizada, a partir de la gráfica de la Ley de Beer, se usa la siguiente fórmula:

$$\begin{array}{l} \text{mgs. de Nicotina} \\ \text{en peso de muestra} \end{array} = \begin{array}{l} \text{Concentración ob-} \\ \text{tenida en la grá-} \\ \text{fica (mg/ml)} \end{array} \times \text{F.D}$$

Un ejemplo para este cálculos es el de la marca No. 1

$$\begin{aligned} \text{mgs. de Nicotina} &= 1.97 \times 10^{-2} \text{ mg/ml} \times 500 \\ &= 9,85 \text{ mg de Nicotina en } 1.0004 \text{ g de} \\ &\quad \text{muestra.} \end{aligned}$$

2. CALCULOS PARA DETERMINAR EL CONTENIDO DE NICOTINA USANDO LA CONCENTRACION DEL ESTANDAR

El contenido de Nicotina en el peso de muestra analizada, en las dieciseis marcas de cigarrillos, se obtiene al sustituir los valores que indica la fórmula:

$$C_m = \frac{C_{st.} \times A_m}{A_{st}} \times \text{F.D.}$$

Donde:

Cm : Concentración de la muestra

Cst: Concentración del st. de Nicotina

Am: Absorbancia de la muestra

Ast: Absorbancia del st. de la Nicotina

F.D.: Factor de Dilución

CONCENTRACION DEL St. DE NICOTINA:

La concentración de Nicotina st. en el volumen aplicado al cromatofolio, varía en cada marca de cigarrillos analizada. Para encontrar la concentración de Nicotina en este volumen se calcula de la siguiente forma:

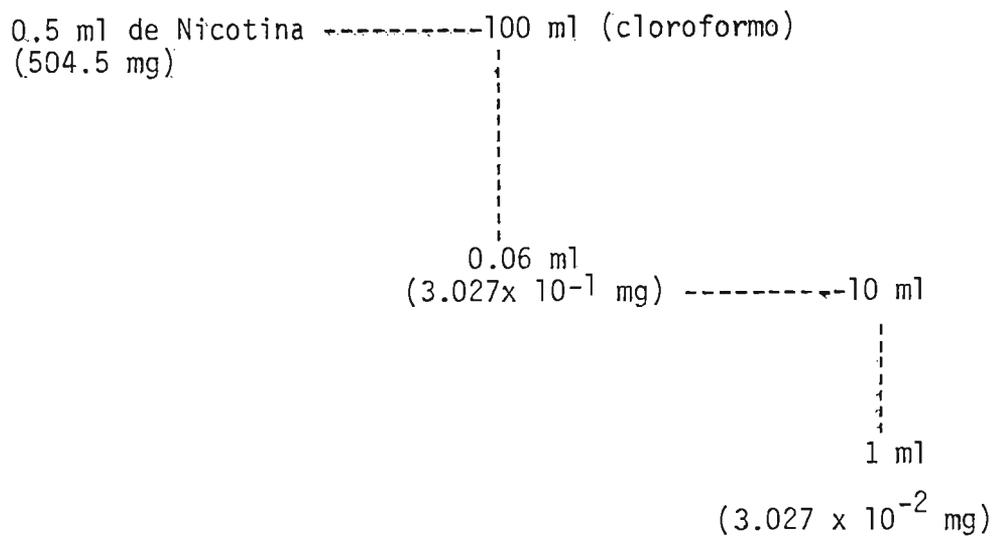
$$\text{Densidad} = \frac{\text{Masa (g)}}{\text{volumen (ml)}}$$

Densidad de la Nicotina = 1.009 g/ml.

La cantidad de Nicotina químicamente pura presente en una solución al 0.5% es:

$$\begin{aligned} \text{Masa} &= 1.009 \text{ g/ml} \times 0.5 \text{ ml} \\ &= 0.5045 \text{ g de Nicotina pura} = 504.5 \text{ mg.} \end{aligned}$$

Si se aplica en el cromatofolio un volumen de 0.06 ml de solución de Nicotina st. al 0.5% , la concentración en 1 ml es:



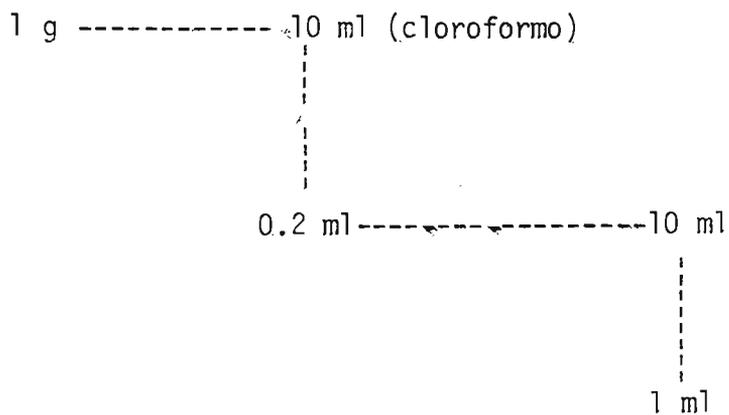
FACTOR DE DILUCION:

Este valor se obtiene de las diluciones hechas a la muestra.

Su fórmula se representa así:

$$F.D. = \frac{\text{Volúmenes finales}}{\text{Alícuotas tomadas}}$$

El valor que resulta en este experimento es:



$$\begin{aligned}
 \text{F.D.} &= \frac{10 \text{ ml} \times 10 \text{ ml}}{0.2 \text{ ml} \times 1 \text{ ml}} \\
 &= \frac{100}{0.2} \\
 &= 500
 \end{aligned}$$

Para calcular la concentración de Nicotina presente en la muestra, desarrollaremos un ejemplo con la marca No. 1

$$\text{Cst.} : 2.018 \times 10^{-2} \text{ mg/ml}$$

$$\text{Ast.} : 0.38$$

$$\text{Am.} : 0.368$$

$$\text{F.D.:} 500$$

$$C_m = \frac{2.018 \times 10^{-2} \text{ mg/ml} \times 0.368}{0.38} \times 500$$

$$= 9.771 \text{ mg de Nicotina en 1.0004 g de muestra analizada}$$

$$\% = 0.98 \text{ g de Nicotina en 100 g de muestra}$$

Ver los resultados en la Tabla No. 5.

TABLA No. 4

CONCENTRACION DE NICOTINA St.
PARA CADA MARCA DE CIGARRILLO

No. de Marca	Vol. de Nicotina stn. aplicado en el cromatofolio.	Absorbancia de la Nicotina st.	Concentración de la Nicotina st. mg/ml
1	0.04 ml	0.38	2.018×10^{-2}
2	0.05 ml	0.46	2.523×10^{-2}
3	0.06 ml	0.60	3.027×10^{-2}
4	0.05 ml	0.46	2.523×10^{-2}
5	0.05 ml	0.49	2.523×10^{-2}
6	0.05 ml	0.53	2.523×10^{-2}
7	0.05 ml	0.57	3.027×10^{-2}
8	0.06 ml	0.64	3.027×10^{-2}
9	0.03 ml	0.26	1.514×10^{-2}
10	0.04 ml	0.41	2.018×10^{-2}
11	0.04 ml	0.41	2.018×10^{-2}
12	0.05 ml	0.50	2.523×10^{-2}
13	0.04 ml	0.42	2.018×10^{-2}
14	0.04 ml	0.42	2.018×10^{-2}
15	0.04 ml	0.40	2.018×10^{-2}
16	0.04 ml	0.38	2.018×10^{-2}

TABLA NO. 5

CUANTIFICACION DE NICOTINA EN 16 MARCAS DE CIGARRILLOS
USANDO ESTANDAR DE REFERENCIA

NO. de Marca	Peso promedio de muestra analizada (g)	Absorbancia promedio de las muestras	Absorbancia del st. de Nicotina	mgs. de Nicotina en. muestra de muestra	mgs. de Nicotina en 100 g. de tabaco.
1	1.0004	0.368	0.38	9.77	0.98
2	1.0012	0.445	0.46	12.20	1.20
3	1.0064	0.568	0.60	14.33	1.43
4	1.0130	0.415	0.46	11.38	1.12
5	1.0009	0.462	0.49	11.89	1.19
6	1.0012	0.520	0.53	12.38	1.24
7	1.0038	0.582	0.57	15.45	1.53
8	1.0019	0.618	0.64	14.61	1.46
9	1.0020	0.272	0.26	7.92	0.78
10	1.0062	0.420	0.41	10.34	1.03
11	1.0049	0.418	0.41	10.29	1.03
12	1.0062	0.482	0.50	12.16	1.20
13	1.0038	0.435	0.42	10.45	1.05
14	1.0027	0.430	0.42	10.33	1.03
15	1.0038	0.382	0.40	9.63	0.96
16	1.0029	0.350	0.38	9.29	0.93

TABLA No. 6

RESUMEN DE LAS DETERMINACIONES
REALIZADAS A 16 MARCAS DE CIGARRILLOS.

No. de marca	Peso promedio neto del cigarrillo. mgs.	Longitud del cigarrillo mm.	mgs. de Nicotina per cigarrillo.
1	790	84	7.71
2	840	84	10.23
3	900	100	12.81
4	840	84	9.44
5	680	73	8.08
6	830	84	10.26
7	890	100	13.70
8	820	84	11.96
9	830	84	6.56
10	900	100	9.25
11	880	100	9.01
12	800	84	9.67
13	770	84	8.02
14	990	100	10.20
15	820	84	7.87
16	640	64	5.93

v - DISCUSSION

V - D I S C U S I O N

1. Existe una diferencia en el contenido de nicotina, de 0.1-0.2% entre los valores obtenidos en la curva de calibración con los valores obtenidos por medio del uso del estándar de nicotina. Son considerados como aceptables los valores obtenidos con la aplicación del estándar de nicotina, **porque la muestra y el estándar son analizadas con el mismo procedimiento.**
2. Antes del proceso de fabricación de cigarrillos, las hojas del tabaco están sometidas a efectos de temperatura, humedad y presencia de sustancias químicas, que permiten interpretar la variación del contenido de nicotina que presentan las marcas de cigarrillos analizadas.

VI - CONCLUSIONES

VI - CONCLUSIONES

1. Los resultados de la concentración de nicotina, obtenidos por medio de la técnica de separación cromatográfica y el método de análisis espectrofotométrico, son satisfactorios y confiables, en comparación con otros métodos.
2. Los porcentajes de nicotina que presentaron las 16 marcas de cigarrillos estudiados están entre 0.93% y 1.53%, estos valores se encuentran dentro del rango aceptado internacionalmente que son del 1 al 2% de nicotina, para tabacos de cigarrillos.

VII - RECOMENDACIONES

VII - RECOMENDACIONES

1. A las Industrias Tabacaleras del país se les recomienda la aplicación de las técnicas Cromatográfica en capa fina, y el método Espectrofotométrico para determinar la concentración de nicotina en el tabaco, después del curado, y de esa manera clasificar el tabaco en base a la concentración encontrada.
2. Realizar nuevo análisis para determinar la concentración de alquitrán y otros componentes presentes en el tabaco de los cigarrillos nacionales.

VIII - B I B L I O G R A F I A

1. Argenti, M.; Zavala, E. Determinación del contenido de Nicotina en el tabaco de cigarrillo. Revista del Instituto Nacional de Farmacología y Bromatología. No. 23, Facultad de Farmacia y Bioquímica. Argentina, Agosto de 1982. pp. 383.
2. Avalos, José Pastor. Cultivo del Tabaco. Escuela Nacional de Agricultura. El Salvador. 1978.
3. Bellegarrigue, Eva. A., Cruz, Gloria M. Estudio Bibliográfico Teórico Práctico de Compuestos Biológicos en Química Orgánica. San Salvador. Universidad de El Salvador. 1983. pp. 330-386.
4. Buzzo, Alfredo., Toxicología. Argentina. Aniceto López editor. 1958. pág. 337-338.
5. Casamada, San Martín. Farmacognosia con Farmacodinamia, Barcelona, Editorial Científico Médica. 1968. pp. 197, 214, 835, 836, 837.
6. Canjura, Carlos Alfredo. Manual del Tabacalero. Revista Agricultura Salvadoreña, No. 28. Octubre 1974. pp.26-33.
7. Clarke, E.G.C., Isolation and Identification of Drugs. London, The Pharmaceutical Press. 1974. pp. 440-441.
8. Clark, George L. Enciclopedia de Química. Barcelona Ediciones Omega. 1961. pp. 931, 1304, 1305.
9. Claus, E., Tyler, V. Farmacognosia. 5ta. edición. Buenos Aires. 1965. pp. 241, 589, 490.

10. Dominguez S., Xorge Alejandro. Cromatografía en papel y en capa delgada. Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico, Depto. de Asuntos Científicos . Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos. Washington. 1975, pp. 79.
11. Drill, Victor. Farmacología Médica. México. La Prensa Mexicana. 1969. pp. 576-579.
12. Fuhner, Phill. Toxicología Médica; Manual para médicos, farmacéuticos y químicos. Madrid. Editorial Científico Médica. 1956. pp. 834-835.
13. Goodman y Gilman. Bases Farmacológicas de la Terapéutica. 6a. edición. México. Editorial Médica Panamericana. 1980. pp. 222,223,224,554,555, 556, 557.
14. Hill, Albert F. Botánica Económica; Plantas útiles y productos vegetales. Barcelona. Ediciones Omega. 1976. pp. 230-330.
15. Kent, James. Química Industrial. Barcelona. Ediciones Grijalbo, 1964. pp. 697.
16. Kirk, Raymond E. Enciclopedia Tecnología Química, México. UTHEA, 1961. Tomo XIV pp. 943-962.
17. Mela, Mela Pedro. Cultivos de Regadío. Zaragoza. Ediciones Agrocienza, 1963. Tomo II. pp. 1-99.
18. Ochse, J.J., Soule, M.J. , Dijkaman, M.J., Welhlburg, C. Cultivo y Mejoramiento de plantas ptropicales y subtropicales. México. Limusa-Wiley, 1965. pp. 1391-1403.

19. Organización Mundial de la Salud. Lucha contra el tabaquismo epidémico. Serie de Informes Técnicos No. 636. Ginebra, 1979. pp. 7-99
20. Organización Mundial de la Salud. Consecuencias del tabaco para la salud. Serie de Informes Técnicos No. 568. Ginebra, 1974. pp. 7-110
21. Romero, Carlos. Comunicación Personal. San Salvador. Cigarrería Morazán. Agosto de 1984.
22. Steacher , Paul G. The Merck Index. 7a. edición. New Jersey. Merck and Co. Inc. Rahway, 1960. pp. 719.
23. Skoog, D. y West, D. Análisis Instrumental. México, Interamericana, 1975. pp. 68-89.
24. U.S. Department of Health, Education and Welfare. The Health consequences of smoking. A report of the Surgeon General. Washington. 1981.
25. Wyngaarden, James. Tratado de Medicina Interna. México. Editorial Interamericana, 1983. Tomo I, II, pp. 1140, 1141, 1189, 1190, 1191, 1202, 1272, 1464, 1480, 1561, 1799, 1815, 2154.

IX - A N E X O S

IX - A N E X O S1. PRECISION Y EXACTITUD DE LOS RESULTADOS
ESPECTROFOTOMETRICOS

Todo método de análisis tiene sus limitaciones y es preciso conocer sus inconvenientes , lo mismo que sus ventajas.

Dos características son importantes para evaluar un método de análisis químico, éstas son: Precisión y Exactitud.

La Precisión de un resultado numérico es el grado de concordancia entre el mismo y otros valores obtenidos en condiciones fundamentalmente iguales.

La Exactitud de un resultado numérico es el grado de concordancia entre este resultado y el valor verdadero. Puede admitirse como valor más probable el promedio o media, de los resultados numéricos obtenidos,

Para determinar la precisión de una serie de medidas se usan diferentes métodos. El método empleado como medida de mayor confianza es el resultado de la desviación estándar, este resultado da el grado de confianza del valor de la media.

La desviación estándar viene dada por:

$$S = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{N-1}}$$

Los símbolos tienen el significado siguiente:

X = Valor medido

\bar{X} = Media aritmética de los valores medidos

N = Número de medidas.

RESULTADOS DE ABSORBANCIAS OBTENIDAS
EN LAS MARCAS DE CIGARRILLOS

No. de Marca	1a.Abs.	2da. Abs.	3a.Abs.	4ta.Abs.	Valor Medio
1	0.34	0.39	0.34	0.40	0.358
2	0.39	0.41	0.49	0.49	0.445
3	0.58	0.61	0.52	0.56	0.558
4	0.38	0.45	0.40	0.40	0.415
5	0.50	0.45	0.47	0.43	0.452
6	0.54	0.52	0.54	0.48	0.520
7	0.58	0.53	0.62	0.60	0.582
8	0.55	0.60	0.58	0.63	0.618
9	0.24	0.22	0.27	0.33	0.272
10	0.40	0.46	0.43	0.39	0.420
11	0.40	0.40	0.43	0.44	0.418
12	0.52	0.45	0.50	0.45	0.482
13	0.48	0.40	0.40	0.45	0.435
14	0.50	0.40	0.38	0.44	0.430
15	0.32	0.48	0.38	0.35	0.382
16	0.38	0.32	0.40	0.30	0.350

TABLA No. 8

DESVIACION STANDAR PARA LOS
VALORES DE ABSORBANCIA

No. de Marca	$(\bar{X}-X)^2$	Desviación estándar
1	0.0031	0.0321
2	0.0082	0.0523
3	0.0043	0.0378
4	0.0028	0.0305
5	0.0026	0.0294
6	0.0024	0.0283
7	0.0044	0.0383
8	0.0035	0.0345
9	0.0114	0.0616
10	0.0030	0.0316
11	0.0012	0.0200
12	0.0032	0.0326
13	0.0050	0.0408
14	0.0084	0.0529
15	0.0144	0.0692
16	0.0068	0.0476