

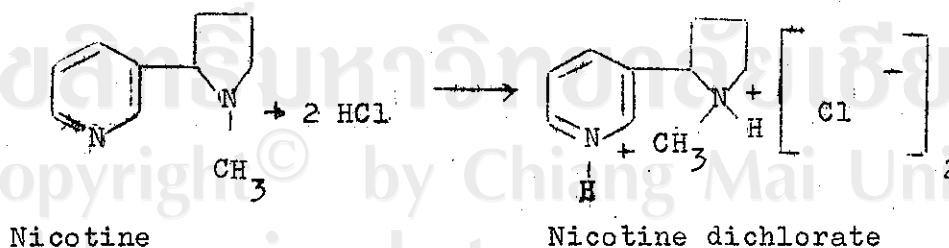
การหาปริมาณนิโคตินในใบยาสูบตัวอย่างโดยวิธีไทเทรชัน

3.1 คำนำ

โคกฉาวมาแล้วว่าการวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินในใบยาสูบตัวอย่างมีหลายวิธีด้วยกัน ทั้งวิธี เคมีและวิธีใช้เครื่องมือ ส่วนการสกัดนิโคตินจากใบยาสูบมีหลายวิธี วิธีกลั่นด้วยไอน้ำเป็นวิธีที่สกัดนิโคตินออกจากใบยาสูบได้ดีวิธีหนึ่ง และนิโคตินที่สกัดได้มีความบริสุทธิ์พอสมควร ซึ่งสามารถนำไปวิเคราะห์โดยวิธีต่าง ๆ ได้ ในงานวิจัยนี้ได้วิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินในใบยาสูบตัวอย่างโดยวิธีไทเทรชันโดยอาศัยหลักของ Ray F. Dawson (10) และได้สกัดนิโคตินจากใบยาสูบโดยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำภายใต้สภาวะการทดลองที่เหมาะสม (หัวข้อ 2.3.6.3 และหัวข้อ 2.3.7.1 ข้อ ก-ค)

3.2 หลักการ

เมื่อสกัดนิโคตินออกจากใบยาสูบโดยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ นิโคตินจะระเหยปนมากับไอน้ำเมื่อผ่านเครื่องควบแน่นนิโคตินจะละลายในน้ำซึ่งมีคุณสมบัติเป็นเบสสามารถนำไปไทเทรตหาปริมาณได้โดยใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid) ที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอน โดยใช้ methyl red เป็นอินดิเคเตอร์ ปฏิกิริยาของการไทเทรตคือ



3.3 การเก็บใบยาสูบตัวอย่าง ใช้ตัวอย่างเดียวกับหัวข้อ 2.3.4 ตาราง 2.2

3.4 การทดลอง

3.4.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องกลั่นด้วยไอน้ำ

3.4.2 สารเคมี

1. Sodium Chloride, analytical grade

ผลิตโดยบริษัท E.Merck A.G. Darmstadt, Germany

2. Sodium Hydroxide Pellets, analytical grade

ผลิตโดยบริษัท E.Merck A.G. Darmstadt, Germany

3. Hydrochloric acid, analytical grade

ผลิตโดยบริษัท E.Merck A.G. Darmstadt, Germany

4. Sodium Carbonate anhydrous, analytical grade

ผลิตโดยบริษัท E.Merck A.G. Darmstadt, Germany

5. Congo red indicator

ผลิตโดยบริษัท E.Merck A.G. Darmstadt, Germany

6. Methyl red indicator

ผลิตโดยบริษัท E.Merck A.G. Darmstadt, Germany

3.4.3 การเตรียมสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์

3.4.3.1 การเตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.02 mole/dm^3

นำกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นจำนวน 0.835 cm^3 เท็มลงใน

น้ำกลั่นในขวดปริมาตรขนาด 500 cm^3 แล้วทำให้ครบปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

3.4.3.2 การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium

hydroxide) 30 %

ซิงโครเนียมไฮดรอกไซด์มา 30 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วทำให้มีปริมาตรครบ 100 cm^3 ในการวัดปริมาตร

3.4.3.3 การเตรียมสารละลาย methyl red เป็นอินดิเคเตอร์

ซิงอินดิเคเตอร์ 0.1 กรัม ละลายในเอธานอล 60 cm^3 แล้วเติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 cm^3 ในขวดปริมาตร

3.4.3.4 การเตรียมสารละลาย congo red เป็นอินดิเคเตอร์

ซิงอินดิเคเตอร์ 0.5 กรัม ละลายในเอธานอล 10 cm^3 แล้วเติมน้ำกลั่นลงอีก 50 cm^3

3.4.3.5 การเตรียมสารละลายแอนไฮดรัสซิงโครเนียมคาร์บอเนต

(primary standard $\text{anh. Na}_2\text{CO}_3$) ใช้ในการ standardize กับกรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 0.02 mole/dm^3 ซิง $\text{anh. Na}_2\text{CO}_3$ 0.0530 กรัม (ด้วยเครื่องชั่งอย่างละเอียด) ละลายด้วยน้ำกลั่น แล้วทำให้มีปริมาตรครบ 50 cm^3 ในขวดปริมาตร

3.4.4 การเตรียมใบยาสูบตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์

เตรียมตัวอย่างใบยาสูบเหมือนกับหัวข้อ 2.2.5

3.4.5 การสกัดนิโคตินในใบยาสูบตัวอย่าง

ทำการทดลองเหมือนหัวข้อ 2.3.6.3 และใช้ภาวะเหมาะสมตามหัวข้อ

2.3.7.1 ข้อ ก-ค แต่ไม่ต้องมีกรดไฮโดรคลอริกเป็นตัวรองรับ (reciever) สารละลายที่กลั่นได้

3.4.6 การหาปริมาณของนิโคตินในใบยาสูบตัวอย่าง

ก. นำสารละลายที่กลั่นได้จากหัวข้อ 3.4.5 ด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตรเป็น 250 cm^3 ในขวดวัดปริมาตร

ข. เขยาสารละลายประมาณ 1 นาที

ค. แบ่งสารละลายมา 50 cm^3 ด้วยขวดปริมาตร และเติม methyl red 1 หรือ 2 หยด

ง. ไทเทรทด้วยสารละลายไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.02 mole/dm^3

จ. เมื่อถึงจุดยุติ (end point) สารละลายจะเปลี่ยนสีจากสีแดงเป็นสีส้ม

3.5 ผลการทดลองและวิจารณ์

3.5.1 การหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (24)

ความเข้มข้นที่แน่นอนของกรดไฮโดรคลอริกหาได้โดยการ standardize กับสารละลายแอนไฮไดรต์โซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้น 0.02 mole/dm^3 มี congo red เป็นอินดิเคเตอร์

ตาราง 3.1 การหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่เตรียมขึ้น

ครั้งที่	ปริมาตร HCl (cm^3)	ปริมาตร anhyd. Na_2CO_3 ที่ใช้ (cm^3)	(HCl), mole/dm^3
1	50.00	50.00	0.0200
2	50.00	50.00	0.0200
3	50.00	50.00	0.0200

จากตาราง 3.1 จะได้สารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่มีความเข้มข้นแน่นอนเท่ากับ

0.02 mole/dm^3

ตาราง 3.2 ผลการวิเคราะห์นิกอตินในใบยาสูบตัวอย่างโดยวิธีการไทเทรต

sample No	weight of sample (g)			volume of titrant (cm ³)			% nicotine			
	(1)	(2)	(3)	(1)	(2)	(3)	(1)	(2)	(3)	average
1	0.2451	0.2463	0.2548	0.25	0.25	0.27	0.83	0.82	0.87	0.84
2	0.2861	0.2346	0.2448	0.30	0.25	0.25	0.85	0.86	0.83	0.85
3	0.2417	0.2563	0.2754	0.27	0.27	0.30	0.92	0.86	0.88	0.89
4	0.2565	0.2543	0.2640	0.47	0.46	0.49	1.48	1.47	1.50	1.48
5	0.2761	0.2560	0.2671	0.35	0.31	0.31	1.04	0.97	0.94	0.98
6	0.2787	0.2891	0.2856	0.32	0.30	0.30	0.93	0.85	0.84	0.87
7	0.2524	0.2866	0.2943	0.29	0.31	0.32	0.92	0.87	0.89	0.89
8	0.2620	0.2773	0.2504	0.20	0.21	0.20	0.64	0.60	0.65	0.63
9	0.2893	0.2644	0.2745	0.30	0.25	0.26	0.84	0.78	0.78	0.80
10	0.2554	0.2884	0.2977	0.28	0.35	0.33	0.90	0.98	0.90	0.93
11	0.2889	0.2778	0.2543	0.10	0.09	0.08	0.29	0.27	0.25	0.27
12	0.2730	0.2678	0.2883	0.33	0.30	0.35	0.98	0.90	0.98	0.95
13	0.2658	0.2545	0.2584	0.29	0.25	0.26	0.85	0.80	0.83	0.83
14	0.2981	0.2533	0.2452	0.64	0.53	0.52	1.74	1.71	1.73	1.73
15	0.2411	0.2519	0.2868	0.26	0.27	0.33	0.86	0.88	0.94	0.89
16	0.2341	0.2418	0.2896	0.31	0.32	0.34	1.08	1.06	1.10	1.08
17	0.2346	0.2598	0.2844	0.28	0.31	0.36	0.95	0.98	1.02	0.98
18	0.2440	0.2563	0.2931	0.19	0.22	0.21	0.62	0.68	0.60	0.63
19	0.2413	0.2531	0.2549	0.29	0.31	0.30	0.96	0.98	0.95	0.96
20	0.2510	0.2765	0.2433	0.20	0.23	0.20	0.64	0.66	0.68	0.66

3.5.2 การหาความแม่นยำ (precision) ของการวิเคราะห์โดยเทคนิคการไทเทรต

นำใบยาสูบตัวอย่างหมายเลข 2 มาหาปริมาณนิโคตินโดยวิธีดังกล่าวมาแล้วในหัวข้อ 3.3.7 แล้วคำนวณตามหัวข้อ 3.5.4 โดยทำการทดลองซ้ำกัน 7 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย (mean) ความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) และความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation) ตามวิธีทางสถิติ (กึ่งหัวข้อ 2.3.7.3)

ตาราง 3.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณนิโคตินในใบยาสูบตัวอย่างเพื่อหาความแม่นยำของเทคนิคการไทเทรต

ครั้งที่	weight of sample (g)	ปริมาตรสารละลาย HCl เข้มข้น 0.02 mole/dm ³ ที่ใช้ (cm ³)	เปอร์เซ็นต์ของนิโคติน
1	0.2270	0.22	0.78
2	0.2791	0.30	0.86
3	0.2815	0.28	0.82
4	0.2548	0.25	0.80
5	0.2637	0.28	0.85
6	0.2642	0.27	0.84
7	0.2488	0.26	0.86

จากข้อมูลข้างต้น คำนวณค่าต่าง ๆ ได้ดังนี้

1. ค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์นิโคติน = 0.83

2. ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน = ± 0.03

3. ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ = $\pm 3.61 \%$

(coefficient of variation)

3.5.3 การทดสอบนัยสำคัญทางสถิติ (test of significance)

เพื่อให้ทราบว่าหลังจากสกัดนิโคตินโดยการกลั่นด้วยไอน้ำแล้วนำมาหาปริมาณนิโคตินโดยใช้เครื่องมืออุตสาหกรรมไวโอเลตสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ เปรียบเทียบกับการไตเตรชันบอกความแตกต่างระหว่าง 2 วิธีนี้ มีนัยสำคัญทางสถิติหรือไม่ โดยใช้ F test

จากตาราง 2.13 และตาราง 3.3 เป็นผลการทดลองของ 2 วิธี ที่ได้จากการหาปริมาณนิโคตินในตัวอย่างชนิดเดียวกัน (ใบยาสูบตัวอย่างหมายเลข 2) สามารถสรุปและเปรียบเทียบกันระหว่าง 2 เทคนิคนี้ ดังแสดงในตาราง 3.4

ตาราง 3.4 ผลการทดลอง เปรียบเทียบกันระหว่างวิธีไตเตรชันกับวิธีอุตสาหกรรมไวโอเลตสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ในตัวอย่างชนิดเดียวกัน

ผลจากวิธีไตเตรชัน (%)	ผลจากวิธีอุตสาหกรรมไวโอเลตสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (%)
0.78	0.66
0.86	0.62
0.82	0.66
0.80	0.64
0.85	0.64
0.84	0.63
0.86	
mean($\bar{x}_1$) 0.83	mean($\bar{x}_2$) 0.64

จากสูตร $F = \frac{s_1^2}{s_2^2}$ เมื่อ $s_1^2 > s_2^2$

เมื่อ F = อัตราส่วนของ variaces ของทั้งสองวิธีโดย variance คือ กำลังสองของ standard deviation

S = standard deviation

แทนค่า $s_1^2 = \frac{(x_{i1} - \bar{X}_1)^2}{N_1 - 1} = \frac{0.0058}{6} = 0.00097$

$s_2^2 = \frac{(x_{i2} - \bar{X}_2)^2}{N_2 - 1} = \frac{0.0049}{5} = 0.00098$

$\therefore F = \frac{0.00097}{0.00098} = 0.99$

และมี degree of freedom (จำนวนครั้งของการวัดหนึ่ง) ของเทคนิคการไทเทรตและเทคนิคดูดกลืนวาโอเลตสเปกโตรโฟโตเมตรีเป็น ν_1 และ ν_2 ตามลำดับ

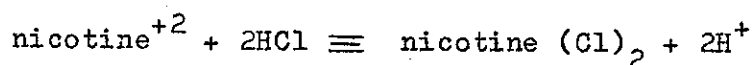
โดยที่ $\nu_1 = 6$
 $\nu_2 = 5$

นำ ν_1 และ ν_2 ไปวัดค่า F จากตารางจะได้อค่า 4.95 ในระดับความเชื่อมั่น 95 % ซึ่งค่าที่คำนวณได้มีค่าน้อยกว่า สรุปได้ว่าความแตกต่างในความแม่นยำของทั้ง 2 วิธี ไม่นับนัยสำคัญทางสถิติ

3.5.4 ตัวอย่างการคำนวณ

จากตาราง 3.2 ในตัวอย่างใบยาสูบหมายเลข 1 ครั้งที่ 1 จะได้ว่า ปริมาตรกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.02 mole/dm^3 ที่ใช้ไทเทรต = 0.25 cm^3

จากสมการ



จะได้ว่า 2 mole HCl ทำปฏิกิริยาพอดีกับ 1 mole nicotine

$$\text{น้ำหนักโมเลกุลของ nicotine} = 162$$

$$\text{สารละลาย HCl } 1000 \text{ cm}^3 \text{ มีเนื้อสาร} = 0.02 \text{ mole}$$

$$\text{สารละลาย HCl } 0.25 \text{ cm}^3 \text{ มีเนื้อสาร} = \frac{0.02 \times 0.25}{1000} \text{ mole}$$

$$\therefore \text{ไนโคติน} = \frac{0.02 \times 0.25}{2 \times 1000} \text{ mole}$$

$$\text{ในสารละลาย } 50 \text{ cm}^3 \text{ มีไนโคติน} = \frac{0.02 \times 0.25}{2 \times 1000} \text{ mole}$$

$$\text{ในสารละลาย } 250 \text{ cm}^3 \text{ มีไนโคติน} = \frac{0.02 \times 0.25 \times 250}{2 \times 1000 \times 50} \text{ mole}$$

$$\therefore \text{คิดเป็นน้ำหนัก} = \frac{0.02 \times 0.25 \times 250 \times 162}{2 \times 1000 \times 50} \text{ g}$$

$$\therefore \text{ในใบยาสูบ } 0.2451 \text{ g. มีไนโคติน} = \frac{0.02 \times 0.25 \times 250 \times 162}{2 \times 1000 \times 50} \text{ g}$$

$$\text{ในใบยาสูบ } 100 \text{ g. มีไนโคติน} = \frac{0.02 \times 0.25 \times 250 \times 162 \times 100}{2 \times 1000 \times 50 \times 0.2451} \text{ g}$$

$$= 0.83 \text{ g.}$$

จากผลการทดลองครั้งที่ 2 และ 3 ได้ % ไนโคติน = 0.82 และ 0.87

$$\therefore \text{ค่าเฉลี่ย \% ไนโคติน} = \frac{0.83 + 0.82 + 0.87}{3}$$

$$= 0.84$$

3.5.5 การศึกษารอยละของการคืนกลับ (% recovery) ของวิธีไทเทรชัน มีวิธีการดังนี้

1. นำ ใบยาสูบตัวอย่างหมายเลข 6 มาหาเปอร์เซ็นต์นิโคติน 3 ครั้ง ทำการทดลองตามหัวข้อ 3.3.4, 3.3.5 และ 3.3.6 แล้วคำนวณตามหัวข้อ 3.5.4 ได้ผลการทดลองทั้งแสดงในตาราง 3.5

ตาราง 3.5 การหาเปอร์เซ็นต์นิโคตินที่แน่นอนของใบยาสูบตัวอย่างหมายเลข 6

number of determination	weight of sample (g)	volume of titrant (cm ³)	% nicotine
1	0.2866	0.31	0.87
2	0.2596	0.28	0.86
3	0.2943	0.26	0.89
average	0.2802	0.28	0.87

2. เตรียมสารละลายมาตรฐานที่ทราบปริมาณนิโคตินที่แน่นอน (10.05-50.25 mg) ลงไปในสารละลายใบยาสูบตัวอย่าง แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณนิโคตินโดยใช้เทคนิคเดียวกัน ได้ผลดังตาราง 3.6

3. นำปริมาณนิโคตินที่หาได้ในข้อ 2 ลบด้วยปริมาณนิโคติน (เฉลี่ย) ที่หาได้จากข้อ 1. จะได้ปริมาณของนิโคตินของสารละลายมาตรฐานนิโคตินที่หาได้

3.6.4 นำปริมาณของนิโคตินของสารละลายมาตรฐานนิโคตินที่หาได้จากข้อ 3 หาค่ายปริมาณนิโคตินของสารละลายมาตรฐานที่เติมลงไป แล้วคูณผลที่ได้ด้วย 100 ก็จะเป็น percentage recovery ของเทคนิคนี้ ดังแสดงในตาราง 3.6

ตาราง 3.6 ค่า percentage recoveries โดยวิธีไทเทรชัน

number of determination	weight of sample (g)	ปริมาณ nicotine ที่เติม (cm ³)	ปริมาณ nicotine ที่เติม (mg)	volume of titrant (cm ³)	% nicotine	ปริมาณ nicotine ที่พบ (mg)	percentage recoveries
1	0.2802	0	0	0.28	0.87	-	-
2	0.2497	0.01	10.05	1.46	4.75	9.68	96.32
3	0.2911	0.02	20.10	2.62	7.29	18.69	92.98
4	0.2705	0.03	30.15	3.81	11.41	28.50	94.53
5	0.2606	0.04	40.20	4.96	15.42	37.91	94.30
6	0.2921	0.05	50.25	6.21	17.22	47.76	95.04*
							94.63

จากตาราง 3.6 พบว่าร้อยละการคืนกลับของวิธีการไทเทรตมีค่าตั้งแต่ 92.98-95.04 และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 94.63

3.5.6 การคำนวณร้อยละการคืนกลับ (% recovery)

สารละลายนิโคติน 1 cm^3 มีจำนวน = 1.005 กรัม

สารละลายนิโคติน 0.05 cm^3 มีจำนวน = $1.005 \times 0.05 = 0.05025$ กรัม
= 50.25 มิลลิกรัม

จาก % นิโคติน = $\frac{0.02 \times \text{ปริมาตร HCl}(\text{cm}^3) \text{ ในการไทเทรต} \times 162 \times 250 \times 100}{2 \times 50 \times 1000 \times \text{น้ำหนักยาสูบ (กรัม)}}$

$\therefore$ % นิโคติน = 17.22

น้ำหนักใบยาสูบ 100 มิลลิกรัม มีนิโคตินที่เติมลงไป = $17.22 - 0.87 = 16.35$ มิลลิกรัม

น้ำหนักใบยาสูบ 292.1 มิลลิกรัมมีนิโคตินที่เติมลงไป = $\frac{16.35 \times 292.1}{100} = 47.76$ "

$$\begin{aligned} \text{Percentage recovery} &= \frac{\text{น้ำหนักนิโคตินที่พบ} \times 100}{\text{น้ำหนักนิโคตินที่เติมลงไป}} \\ &= \frac{47.76 \times 100}{50.25} = 95.04 \end{aligned}$$

3.6 สรุปผลการทดลอง

การวิเคราะห์หาปริมาณโคตินในใบยาสูบตัวอย่างโดยวิธีไทเทรชันหลังจากสกัดโคตินจากใบยาสูบตัวอย่างโดยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ จากผลการทดลองพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโคตินโดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 30 % ซึ่งอิมัลชันโซเดียมคลอไรด์ปริมาตร 5 cm³ เป็นตัวสกัด เวลาในการกลั่นด้วยไอน้ำ 20 นาที จากนั้นหาปริมาตรสุดท้ายหลังจากการกลั่นเป็น 250 cm³ ด้วย dionised water ในขวดวัดปริมาตร นำสารละลายที่ได้ 50 cm³ ไทเทรตกับกรดไฮโดรคลอริกที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน 0.02 mole/dm³ มี methyl red เป็นอินดิเคเตอร์ เมื่อศึกษาผลความแม่นยำของการวิเคราะห์โคคาเฉลี่ยเท่ากับ 0.83 ความเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ ± 0.03 ความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์เท่ากับ ± 3.61 % ความถูกต้องของการวิเคราะห์ของเทคนิคนี้โคคาเฉลี่ยเท่ากับ 94.63 % และเมื่อหาปริมาณโคตินในใบยาสูบตัวอย่างในเขตภาคเหนือของประเทศไทยมีค่าตั้งแต่ 0.27-1.73 %

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University

All rights reserved