

# Automatisierte gaschromatographische Simultanbestimmung von Nicotin und Wasser im Tabakrauchkondensat\*

von Jürgen Hollweg, Hans-Joachim Schumacher und Friedlieb Seehofer

B·A·T Cigaretten-Fabriken GmbH, Forschung und Entwicklung, Hamburg

## 1. EINLEITUNG

In der Literatur sind bisher viele Veröffentlichungen zur quantitativen Bestimmung von Nicotin im Tabakrauch erschienen. Im wesentlichen lassen sich die üblichen Routineverfahren in vier Gruppen aufteilen:

1. gravimetrische Bestimmung (1–3),
2. Titration (4, 5),
3. photometrische Bestimmung (6–12),
4. gaschromatographische Analyse (13–20).

Die zuerst von Willits et al. (6) beschriebene spektrophotometrische Bestimmung diente später als Grundlage für internationale Normvorschriften (ISO 3400 und DIN 10 242). Eine automatisierte Abänderung beschreiben Viart et al. (12), während Sadler et al. und Charles et al. (10, 11) die Bromcyan-Reaktion benutzen. Zur vollen Automatisierung eignet sich jedoch am besten die Gaschromatographie. Möglichkeiten mit unterschiedlichen chromatographischen Bestimmungsparametern sind dazu in der Literatur beschrieben (13–20).

Für Wasser im Tabakrauchkondensat sind neben der Karl-Fischer-Titration (21–23) und einer NIR-spektroskopischen Methode (24) vor allem gaschromatographische Bestimmungsverfahren beschrieben worden (25–30). Zunächst haben dabei Säulen mit Trägermaterial und stationärer Phase Verwendung gefunden (25, 26). Die Entwicklung der porösen aromatischen Polymeren (27, 28) hat dann auch die Wasserbestimmung im Tabakrauch erleichtert (29, 30), wobei recht bald ein vollautomatisches System vorgestellt worden ist (30).

Eine Gerätekombination zur automatischen Analyse von Nicotin und Wasser ist zunächst nicht entwickelt worden. Man beschränkte sich auf die gaschromatographische Wasserbestimmung in Verbindung mit der photometrischen Methode für Nicotin (31, 32). Erst in letzter Zeit wurden gleichzeitige Analysen beider Rauchinhaltsstoffe erprobt (33).

Wir wollen nun eine gaschromatographische Simultanbestimmung für beide Substanzen vorstellen, die durch den Einsatz von Autoinjektor und elektronischem Integrator automatisiert worden ist.

## 2. BESCHREIBUNG DER METHODE

### 2.1 Reagenzien

a) *Stammlösung*: 0,1 Vol.-% n-Heptadecan (zur GC) und 0,5 Vol.-% Methanol (p. a.) in Propanol-2 (p. a.). n-Heptadecan ist der interne Standard für Nicotin, Propylenglykol, Diethylenglykol und Triacetin. Für Wasser wurde Methanol als interner Standard gewählt.

b) *Eichreihe für Nicotin, Propylenglykol, Diethylenglykol und Triacetin*: in 250 ml Stammlösung werden folgende Mengen eingewogen:

- 1,0 g Nicotinsalicylat (pur.),
- 0,4 g Propylenglykol (puriss.),
- 0,4 g Diethylenglykol (puriss.),
- 0,4 g Triacetin (pur.).

Zur Eichung werden diese Lösung selbst und ihre Verdünnungen mit Stammlösung in den Verhältnissen 5:95, 20:80, 35:65, 50:50 und 75:25 verwandt.

c) *Eichreihe für Wasser*: es werden vier Eichlösungen mit 100 mg, 200 mg, 400 mg und 600 mg destilliertem Wasser in je 100 ml Stammlösung hergestellt.

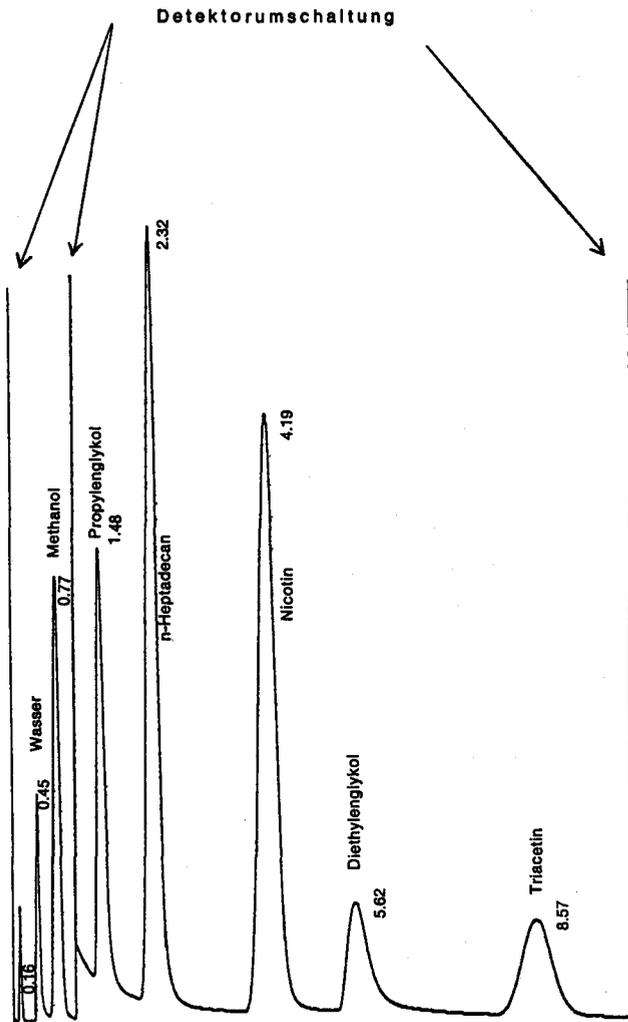
### 2.2 Apparate

2-Säulen-Gaschromatograph Varian 3700 mit Wärmeleitfähigkeitsdetektor (WLD) und Flammenionisationsdetektor (FID); Autosampler Varian 8000; Integrator Spectra Physics 4100; und eine selbstgebaute Umschalteneinheit, die auf dem Prinzip des „Schmitt-Trigger“ beruht und über die Zeitfunktionen des Integrators die Detektorsignale wechselt. Zur Steuerung des Analysenablaufs wird der Integrator mit dem automatischen Injektor gekoppelt.

An den mit handelsüblicher Quarzwolle gefüllten Injektor schließt sich ein variabler „split“ an, der die Probe auf zwei Säulen aufteilt. Zur Wasseranalyse wird eine 1,8 m Stahlsäule (2 mm innerer Durchmesser) mit Porapak Q (60/80 mesh) mit dem Wärmeleitfähigkeitsdetektor (WLD) verbunden. An den Flammenionisationsdetektor (FID) wird eine 1,8-m-Glassäule (2 mm innerer Durchmesser) mit 10% Carbowax 20M auf Chromosorb

\* Eingegangen: 14. Juli 1980 — angenommen: 4. November 1980.

Abbildung 1. Chromatogramm einer Eichlösung.



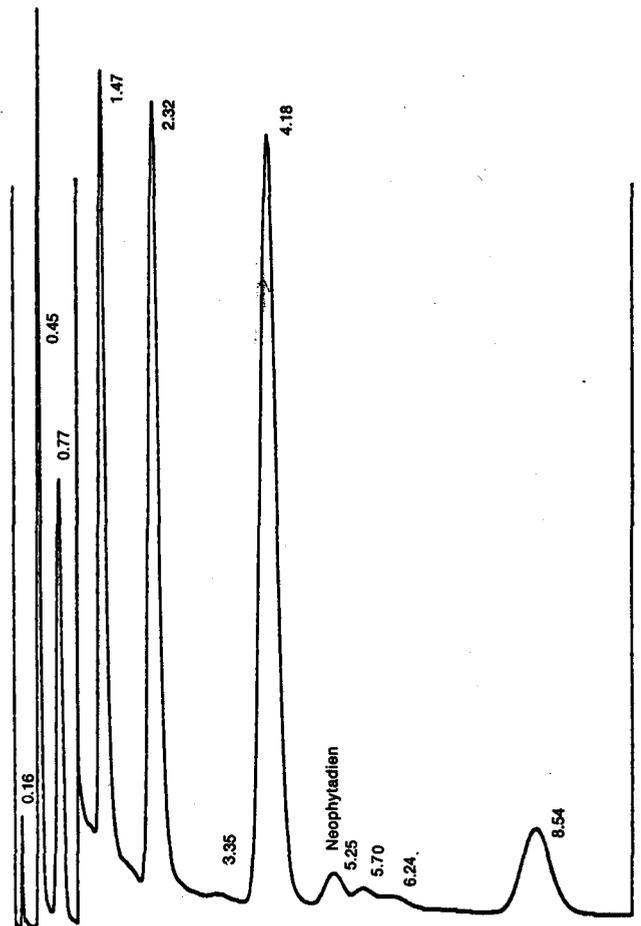
WHP (60/80 mesh) angeschlossen. Auf ihr werden Propylenglykol, Nicotin, Diethylenglykol und Triacetin analysiert.

### 2.3 Analysenbedingungen

Zwanzig Zigaretten werden entsprechend der in der Bundesrepublik Deutschland gültigen Norm (DIN 10 242) abgeraucht. Das Kondensat wird niedergeschlagen und in 20 ml der Stammlösung [2.1a] gelöst. Mit einem Teil der Lösung wird ein Gläschen für den automatischen Injektor gefüllt.

Die GC-Analyse erfolgt druckgeregelt mit Helium als Trägergas. Mit Hilfe eines Druckfeinreglers und des variablen „splits“ werden die Strömungsgeschwindigkeiten auf beiden Säulen optimiert. Für die Carbowax-Säule sollte sich dabei ein Fluß von ca. 30 ml/min ergeben. Die Trägergasgeschwindigkeit der Porapak-Säule wird so eingestellt, daß Wasser und Methanol deutlich vor dem Propylenglykol auf der anderen Säule eluieren. Hierdurch wird eine Umschaltung der Detektorsignale von WLD auf FID ermöglicht, so daß mit einem Einkanalintegrator gearbeitet werden kann. Zur Analyse wird die Säulentemperatur so gewählt, daß die Auflösung der Peaks von

Abbildung 2. Chromatogramm einer Probe.



Nicotin und Neophytadien gut ist. Als Richtwert kann die Retentionszeit von Nicotin dienen, die ungefähr vier bis fünf Minuten betragen soll (Abb. 1). Das Injektionsvolumen sollte möglichst klein gehalten werden ( $\approx 1 \mu\text{l}$ ). Zur Mittelwertbildung ist eine zweifache Injektion derselben Probe ausreichend. Die Temperaturen von Injektor und Detektoren werden ausreichend hoch (ca.  $30^\circ\text{C}$  über Säulentemperatur) eingestellt.

### 2.4 Eichung und Integration

Zur Eichung und Analyse werden zwei „files“ des Integrators benutzt. „File 1“ enthält die Integrationsbedingungen, die Retentionszeiten und Eichdaten von Propylenglykol, n-Heptadecan, Nicotin, Diethylenglykol und Triacetin sowie die Zeitsteuerung der Detektorumschaltung. In „file 2“ werden die Retentionszeiten und Eichdaten von Wasser und Methanol eingegeben.

Die Eichung erfolgt nacheinander für die beiden „files“ mit den jeweiligen Eichreihen. Für „file 1“ wird dabei eine nichtlineare Eichkurve erstellt. In „file 2“ wird eine lineare Eichgerade gemessen, deren Ordinatenabschnitt den ursprünglichen Wassergehalt des verwendeten Isopropanols angibt.

Die Analyse wird mit „file 1“ als „Arbeitsfile“ durchgeführt. Über ein Zusatzprogramm wird der Bericht aus „file 2“ anschließend abgerufen.

### 3. DISKUSSION UND ERGEBNISSE

Im Gegensatz zu den meisten anderen Autoren (13–20) fanden wir es günstiger, auf eine Alkalisierung des Säulenmaterials zu verzichten. Die Lebensdauer der Säule wird dadurch beträchtlich erhöht und die Analyse der Feuchthaltemittel und des Triacetins ermöglicht. Ein „peak tailing“ für Nicotin, wie es auf einer neutralen Säule zu erwarten wäre, läßt sich durch das geringe Injektionsvolumen vermeiden. Auch eine Auflösung der Peaks von Nicotin und Neophytadien ist durch geeignete Wahl der Trägergasgeschwindigkeit zu erreichen (Abb. 2).

Die Druckregelung des Trägergasstroms anstelle einer Regelung der Flußgeschwindigkeit wird aus zwei Gründen bevorzugt. Erstens bleiben die Retentionszeiten über einen längeren Zeitraum konstant, und zweitens wird die Einstellung der Trägergasgeschwindigkeiten auf den beiden Säulen erleichtert.

Die Haltbarkeit der Eichlösungen ist bei Lagerung unter 5 °C über lange Zeit gewährleistet. Aufgrund der Verwendung von zwei internen Standardsubstanzen ist die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse auch bei gleichzeitiger Analyse auf zwei Säulen hervorragend (Tab. 1). Erste Vergleiche mit der DIN-Methode ergaben gute Übereinstimmung der erhaltenen Werte (Tab. 2).

Wegen der weitgehenden Automatisierung des Verfahrens ist nahezu ein Vierundzwanzigstundenbetrieb möglich. Der Probandurchsatz wird dadurch im Vergleich zu anderen Methoden beträchtlich gesteigert.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Eine schnelle, automatisierte Methode zur gleichzeitigen quantitativen Analyse von Nicotin und Wasser im Tabakrauchkondensat wurde entwickelt. Mit dem Verfahren ist es des weiteren möglich, den Gehalt an Propylen-glykol und Diethylenglykol sowie an Triacetin im Kondensat zu quantifizieren.

**Tabelle 1. Reproduzierbarkeit** (Werte in mg je Zigarette).  
nicotinfreies Trockenkondensat: 15,3

Injektion	Nicotin	Diethylen-glykol	Triacetin	Wasser
1	0,938	1,334	0,661	1,492
2	0,948	1,306	0,660	1,537
3	0,912	1,314	0,656	1,543
4	0,912	1,302	0,655	1,664
5	0,899	1,329	0,661	1,584
6	0,916	1,357	0,667	1,600
7	0,934	1,347	0,662	1,578
8	0,928	1,345	0,660	1,527
9	0,918	1,367	0,664	1,434
10	0,933	1,347	0,658	1,612
x	0,924	1,335	0,660	1,557
s	0,015	0,022	0,004	0,065

Die Gerätekombination besteht aus einem isothermen Gaschromatographen mit automatischem Injektor. An den Injektorblock wird ein variabler „split“ angeschlossen, der die Probe auf zwei Trennsäulen aufteilt, da die Analyse aller Substanzen auf einer einzigen Säule in kurzer Zeit nicht gelingt. Die Signale der beiden verwendeten Detektoren (Wärmeleitfähigkeitsdetektor und Flammenionisationsdetektor) werden zeitgesteuert nacheinander an einen elektronischen Einkanalintegrator zur Auswertung übertragen. Mit dem beschriebenen System werden bis zu sechzig Analysen je Tag ermöglicht.

#### SUMMARY

A rapid, automated method for the simultaneous quantitative analysis of nicotine and water in the condensate of tobacco smoke was developed. With the process, it is also possible to quantify the propylene glycol and diethylene glycol, as well as the triacetin contents of the condensate.

The apparatus comprises an isotherm gas chromatograph with an automatic injector. A variable split is connected to the injector block, which distributes the sample between two separation columns, as analysis of all substances in a single column does not succeed in a short time. The signals of the two detectors used (thermal conductivity detector and flame ionisation detector) are transferred one after another, time-switched, to an electronic single-channel integrator to be evaluated. With the system described, up to sixty analyses a day are made possible.

#### RÉSUMÉ

Une méthode rapide et automatisée a été mise au point pour l'analyse quantitative simultanée de la nicotine et de l'eau dans le condensat de la fumée du tabac. La mé-

**Tabelle 2. Vergleichsmessungen Gaschromatographie – Ultraviolett-spektroskopie** (Werte in mg je Zigarette).

Probe	Nicotin-freies Trockenkondensat	Wasser GC	Nicotin GC	Nicotin UV
1	12,2	1,46	0,65	0,67
2	11,0	1,70	0,51	0,45
3	12,7	2,54	0,74	0,64
4	12,9	2,48	0,85	0,79
5	14,1	2,48	0,81	0,80
6	8,3	1,07	0,36	0,31
7	5,9	0,65	0,37	0,42
8	16,5	4,10	1,15	1,19
9	19,6	2,41	1,11	1,07
10	11,1	1,38	0,51	0,56
11	16,2	2,70	1,35	1,22
12	22,5	2,29	1,07	1,10

thode permet également la détermination quantitative du propylène-glycol, du diéthylène-glycol et de la triacétine dans le condensat.

L'appareil comprend un chromatographe à gaz isotherme à injecteur automatique. Un «split» variable, branché sur le bloc de l'injecteur, répartit l'échantillon sur deux colonnes de séparation, l'analyse de toutes les substances sur une seule colonne n'étant pas réalisable en peu de temps. Les signaux des deux détecteurs utilisés (détecteur de conductibilité thermique et détecteur à ionisation de flamme) sont programmés dans le temps et transmis successivement à un intégrateur à un canal pour l'évaluation. Ce système permet d'effectuer jusqu'à 60 analyses par jour.

## LITERATUR

1. a) Bertrand, G., und M. Javillier: *Le tabac*; Paris 1929, S. 165.  
b) Wissenschaftliche Forschungsstelle im Verband der Cigarettenindustrie, Hamburg: 4. Vorschrift für die Bestimmung des Nikotins im Tabak, im Tabakrauchkondensat und in Filtern; *Beitr. Tabakforsch.* 1 (1962) 311.
2. Wenusch, A.: Einige Bemerkungen zur Bestimmung des Nicotins im Tabakrauch; *Biochem. Z.* 271 (1934) 280–284.
3. Staub, M., und H. Furrer: Kritische Untersuchungen über die Nikotinbestimmungsmethoden in Tabak; *Mitt. Lebensmitt. Hyg.* 43 (1952) 490–498.
4. Pfyl, B., und O. Schmitt: Zur Bestimmung von Nicotin in Tabak und Tabakrauch; *Z. Untersuch. Lebensmitt.* 54 (1927) 60–78.
5. Cundiff, R. H., und P. C. Markunas: Determination of nicotine, nornicotine and total alkaloids in tobacco; *Anal. Chem.* 27 (1955) 1650–1653.
6. Willits, C. O., M. L. Swain, J. H. Connelly and B. A. Brice: Spectrophotometric determination of nicotine; *Anal. Chem.* 22 (1950) 430–433.
7. Barkemeyer, H., und F. Seehofer: Zur spektrophotometrischen Bestimmung des Nicotins in Tabak und Tabakrauchkondensaten; *Z. Lebensmitt.-Untersuch.* 112 (1960) 50–52.
8. Ogg, C. L.: Determination of particulate matter and alkaloids (as nicotine) in cigarette smoke; *J.A.O.A.C.* 47 (1964) 356–362.
9. Harvey, W. R., C. E. Badget und F. E. Resnik: Nicotine alkaloids in tobacco leaf, cigarette filler, and particulate matter of smoke by acid-methanol extraction; *Tob. Sci.* 11 (1967) 84–86.
10. Sadler, W. W., R. R. Chesson und A. W. Schoenbaum: Automated procedure for determining the nicotine content of steam distillates; *Tob. Sci.* 4 (1960) 208–212.
11. Charles, J. L., H. M. Stahr und R. M. Ikeda: Automated determination of nicotine in total particulate matter of cigarette smoke; *Tob. Sci.* 13 (1969) 54–58.
12. Viart, P., und M. Bensoussan: Dosage automatique des alcaloïdes dans le condensat de fumée de cigarette; *Annales S.E.I.T.A.—D.E.E.* 9 (1971) 123–134 (Section 1).
13. Quin, L. D.: Alkaloids of tobacco smoke, I. Fractionation of some tobacco alkaloids and of the alkaloid extract of Burley cigarette smoke by gas chromatography; *J. Org. Chem.* 24 (1959) 911–914.
14. Quin, L. D., und N. A. Pappas: Quantitative determination of individual alkaloids in tobacco by gas chromatography; *J. Agr. Food Chem.* 10 (1962) 79–82.
15. Lysterly, L. A.: Direct vapor chromatographic determination of menthol, propylene glycol, nicotine and triacetin in cigarette smoke; *Tob. Sci.* 11 (1967) 49–51.
16. Jacin, H., J. M. Slanski und R. J. Moshy: The determination of nicotine in tobacco and in particulate matter of smoke by gas chromatography; *Anal. Chim. Acta* 41 (1968) 347–353.
17. Wagner, J. R., und N. A. Thaggard: An automated method for the gas chromatographic determination of nicotine in smoke; *Tob. Sci.* 18 (1974) 63–66.
18. Randolph, H. R.: A gas chromatographic determination of nicotine in an isopropyl alcohol extract of smoke particulate matter; *Tob. Sci.* 18 (1974) 137–139.
19. Lysterly, L. A., und G. H. Greene: Determination of nicotine in low-nicotine tobacco; *Beitr. Tabakforsch.* 8 (1976) 359–361.
20. Wagner, J. R., und N. A. Thaggard: Gas-liquid chromatographic determination of nicotine contained on Cambridge filter pads (collaborative study); *J.A.O.A.C.* 62 (1979) 229–236.
21. Morgareidge, K. S.: Observations on the determination of total solids in cigarette smoke; Vortrag anlässlich der 12. Tob. Chem. Res. Conf., Durham, N.C., 1958.
22. Cogbill, E. C., W. B. Wartman jr. und E. S. Harlow: Cigarette smoke, II. Some variables affecting the water content of the particulate phase; *Tob. Sci.* 3 (1959) 136–138.
23. Holmes, J. C., und W. B. Cridlin: Moisture in total particulate matter and gas phase of cigarette smoke; *J.A.O.A.C.* 43 (1960) 515–518.
24. Crowell, E. P., W. F. Kuhn, F. E. Resnik und C. J. Varsel: The determination of moisture in total particulate matter of cigarette smoke by near-infrared spectrophotometry; *Tob. Sci.* 5 (1961) 54–57.
25. Jarrell, J. E., und J. E. Wickham: The determination of moisture in the total particulate matter of cigarette smoke; *Tob. Sci.* 6 (1962) 154–157.
26. Sloan, C. H., und B. J. Sublett: Moisture content of the particulate phase of smoke from filter and non-filter cigarettes; *Tob. Sci.* 9 (1965) 70–74.
27. Hollis, O. L.: Separation of gaseous mixtures using porous polyaromatic polymer beads; *Anal. Chem.* 38 (1966) 309–316.

28. Hollis, O. L., und W. V. Hayes: Water analysis by gas chromatography using porous polymer columns; *J. Gas Chromatog.* 4 (1966) 235–239.
29. Schultz, F. J., und A. W. Spears: Determination of moisture in total particulate matter; *Tob. Sci.* 10 (1966) 75–76.
30. Watson, D. C., R. W. Hale und H. R. Randolph: Automation of the gas chromatographic analysis for water in smoke particulate matter; *J. Chrom. Sci.* 8 (1970) 143–146.
31. Bates, W. W., R. B. Griffith, E. S. Harlow, M. Senkus und H. Wakeham: Determination and reporting of total particulate matter, water in total particulate matter and nicotine in cigarette smoke; *Tob. Sci.* 12 (1968) 192–196.
32. Pillsbury, H. C., C. C. Bright, K. J. O'Connor und F. W. Irish: Tar and nicotine in cigarette smoke; *J.A.O.A.C.* 52 (1969) 458–462.
33. Amcel Co., Inc. and Amcel Europe S.A., World Smoking Products 5.3.1: Simplified determination of nicotine and water levels in cigarette smoke (October 1979).

*Anschrift der Verfasser:*

*B-A-T Cigaretten-Fabriken GmbH,  
Forschung und Entwicklung,  
Alsterufer 4, D-2000 Hamburg 36.*