

嘌呤族生物鹼的非水溶液光度滴定法*

曹金鴻 盧湧泉 湯騰漢

(中国人民解放军医学科学院)

嘌呤族生物鹼类中常見的三种生物鹼包括咖啡鹼、可可鹼及茶鹼等,这三种生物鹼在各国藥典中尚沒有規定含量測定方法。有关它們的原料及制品的分析,文献上規定的方法^[1-3]大都手續繁、費時多,尚難令人滿意。

近年来非水溶液滴定法有了很大的發展, Pifer 氏等^[3]曾提出以冰醋酸为溶剂,用 HClO_4 的冰醋酸溶液行电位滴定来測定咖啡鹼等的有机鹼类。同年 Poulous^[10]报告用冰醋酸及四氯化碳混合液为溶剂,以 α -naphtholbenzein 为指示剂,用 HClO_4 的冰醋酸标准溶液滴定可可鹼,但此法不适用于咖啡鹼。此后 Fritz 氏等^[11]改用醋酐及硝基甲烷混合液为溶剂,以 HClO_4 在冰醋酸中的标准溶液用电位滴定法滴定咖啡鹼、可可鹼及茶鹼等弱鹼。Pernarowski 氏^[12]又改用三氯甲烷及过量的苯为溶剂,以 α -naphtholbenzein 为指示剂,用 HClO_4 的醋酸溶液来滴定咖啡鹼。

上列測定方法需要使用混合溶剂,在溶剂收回上比較麻煩,同时指示剂 α -naphtholbenzein 也不是一种較普通的試藥。我們曾以冰醋酸为溶剂用不同指示剂进行試驗,結果發現咖啡鹼等在冰醋酸溶液中若以孔雀綠为指示剂,可以用 HClO_4 的冰醋酸溶液滴定,但顏色变化过程系逐漸由綠色变为淺黃色,滴定終点很难确定,因此我們試用光度滴定法。

光度滴定法所用仪器,文献上有用分級光度計的^[13-36]及分光光度計的^[37-42]。我們所用的設備系將已有的 Dr. B. Lange 牌分光光度計加以改制而成,它的穩定度及复演性都很高。

根据文献記載^[43],光度滴定法應該用吸光度对标准溶液消耗量画取曲綫。我們試驗結果以此法画曲綫对咖啡鹼及茶鹼确可获得滿意的分析結果。但試驗可可鹼时所得曲綫弯曲度很大,不易用伸長法来决定終点(見圖 5)。經改用透光百分率对标准溶液消耗量画曲綫,并維持指示剂在一定濃度範圍內(在滴定开始前,使透光百分率在 16% 左右),分析結果仍屬滿意。

* 1956 年 7 月 31 日收到。

試 驗

所用設備及試藥：

咖啡鹼：藥典規格，經在水溶液中重結晶三次，再在 105°C 干燥至恒重。

茶鹼：藥典規格，在 105°C 干燥至恒重。

可可鹼：藥典規格，在 105°C 干燥至恒重。

冰醋酸：國產特純品，每 1000 毫升中加入醋酐 20 毫升，放置一晝夜或加熱 100°C 5 分鐘，冷卻後使用。

醋酐：國產特純品。

碳酸鈉：國產特純品，在 250°C 干燥至恒重。

0.05% 孔雀綠指示劑：取孔雀綠 50 毫克溶解於 100 毫升冰醋酸中。

0.5% 結晶紫指示劑：取結晶紫 250 毫克溶解於 50 毫升冰醋酸中。

過氯酸標準溶液(0.1N)：取 72% 過氯酸 8.2 毫升，徐徐倒入 800 毫升無水冰醋酸中，不斷攪拌，需要時加以冷卻。以後再加入醋酐 20.2 毫升以中和由過氯酸中帶入的水分，再用無水冰醋酸稀釋至 1000 毫升，放置 24 小時後備用。本溶液濃度的校準法如下：

精密秤取無水碳酸鈉 0.1—0.15 克，置錐形瓶中，加無水冰醋酸 20 毫升，需要時可加微熱以促進溶解。冷卻後加結晶紫指示劑 1 滴，以過氯酸標準液滴定至溶液由紫色

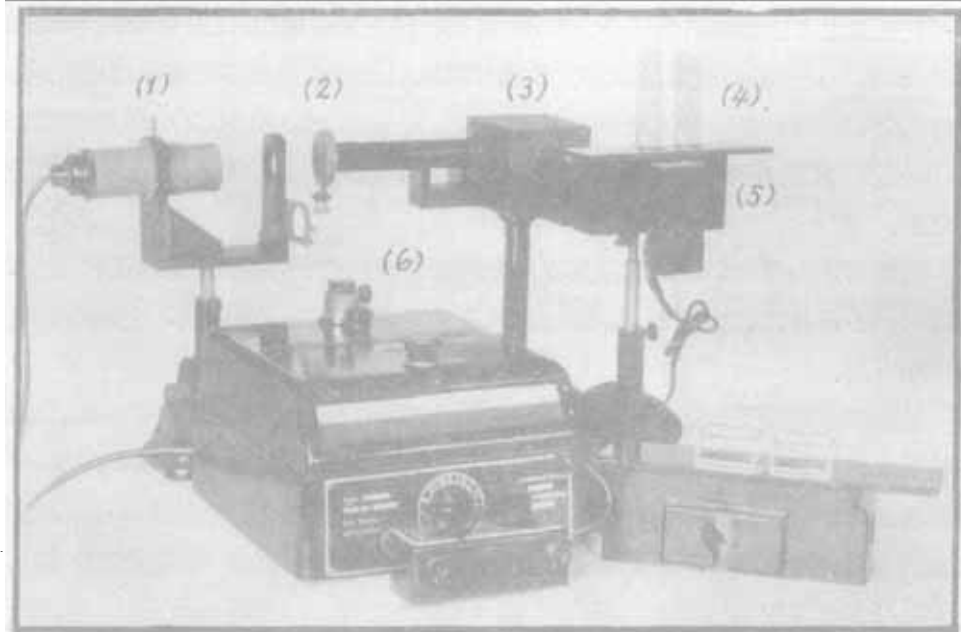


圖 1. 分光光度滴定設備圖

变为純藍色为止。同样做空白試驗一次，由此計算标准液的濃度。

光电比色計：Gallenkamp 牌。

分光光度測定設備：系利用 Dr. B. Lange 牌分光光度計加以改造制成，見圖 1。圖中之(1)为光源及聚光鏡，由此射出的光綫使集中在光縫(2)上，再通过稜鏡(3)，使白色光分散为各种單色光，再通过出光縫及比色管(4)，最后到达光電池(5)上，由此产生光电流，用电流計(6)測量。光縫大小可用光縫下面的螺絲刻度盤調整。單色光波長可用單色光器旁边的螺絲刻度盤調整。所用比色管有大型(長方形，厚度 34 毫米，容積 100 毫升)及半微量(24 × 150 毫米硬質試管)二种。比色管盒系用厚为 5 毫米的木板制成。大型的外壳長 20.1 厘米，寬 6.5 厘米，高 8.0 厘米；內裝可左右移动的比色管架。小型的外壳長 13 厘米，寬 4.5 厘米，高 6.5 厘米。圖 1 中系用半微量比色管工作時的情形。同圖右下方为大型比色管、比色管架及外壳等的外觀。

(一) 孔雀綠指示剂变色过程試驗

用移液管移取冰醋酸 20.0 毫升，置 24 × 150 毫米硬質試管中，加孔雀綠指示剂 4 滴，混合均匀，置半微量比色管架中。另取同样大小試管，內置冰醋酸 20 毫升作为空白溶液；在各种不同波長处，測量透光百分率。以試驗所用波長为横座标，相当的透光百分率为縱座标，画曲綫如

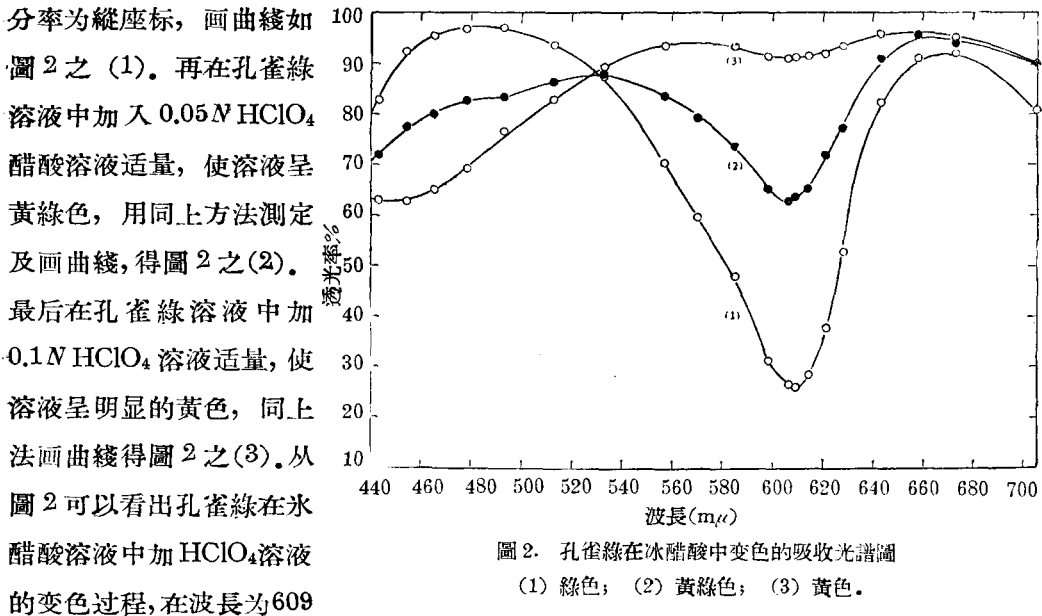


圖 2. 孔雀綠在冰醋酸中变色的吸收光譜圖

(1) 綠色；(2) 黃綠色；(3) 黃色。

m μ 处透光百分率的变化最为灵敏，所以在下列試驗中我們均采用这一波長比色。必須指出我們采用这一波長比色，除了可以使用最小量的指示剂及空白試驗所消耗的标准溶液外，并無其他好处。用其他波長比色同样可以得到滿意的結果。只有波長在 530m μ

附近时不能用来比色, 因为在这个波長时, 整个孔雀綠变色过程中, 其透光百分率几全

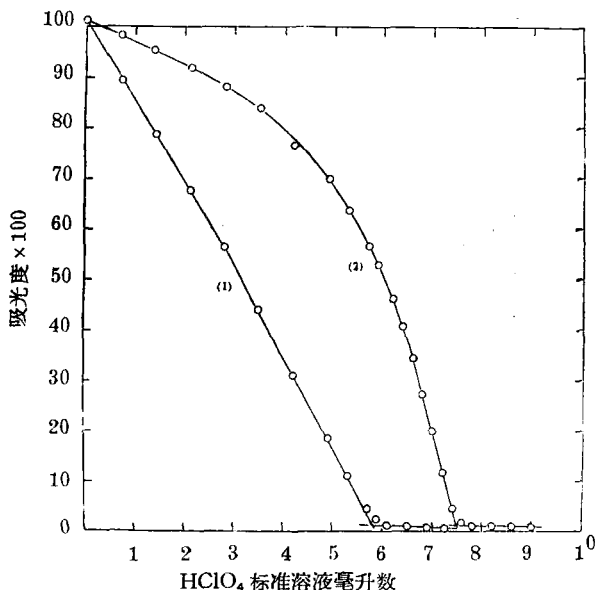


圖 3. 醋酐含量对于滴定曲綫的影响圖

- (1) 不含醋酐, 样品重量为 107.6 毫克;
 (2) 含有 50% 醋酐, 样品重量为 138.8 毫克。
 所用 HClO_4 标准溶液浓度为 0.0962N

無变化。

(二) 醋酐的影响試驗

一般非水溶液滴定試驗时宁可多加过量醋酐以保証醋酸中絕不含水分。但有时醋酐存在会影响分析結果。为了証明醋酐的存在对本法有無影响, 我們做了如下試驗:

精密秤取咖啡鹼一定量, 置厚度为 34 毫米的比色管中, 加含不同量醋酐的水醋酸 50 毫升, 攪拌使溶解, 加孔雀綠指示剂 10 滴 (相当于 0.18 毫升), 混合均匀, 置比色管架中, 以同样水醋酸为空白溶液, 在波長为 $609\text{m}\mu$ 处測量透光百分率。徐徐滴加 HClO_4 标准溶液, 每隔一定

間隔測量透光百分率一次。以所用 HClO_4 标准溶液的毫升数为横座标, 吸光度, $-\log T$ 为縱座标, 画出滴定曲綫, 从曲綫中直綫部分伸長出来以决定滴定終点所在。一部分試驗数据画成曲綫如圖 3。各次实验結果如表 1。

表 1. 用不同濃度醋酐測定咖啡鹼的結果

醋 酐 濃 度, %	样 品 重 量, 毫 克	HClO_4 标准液濃度 N	HClO_4 标准液用 量 毫 升	咖 啡 鹼 回 收 率, %
0	107.6	0.0962	5.81	100.8
12.5	101.5	0.0962	5.50	101.1
25.0	107.0	0.0962	5.80	101.2
50.0	138.8	0.0962	7.50	100.8

从圖 3 及表 1 可見醋酐过多只能使滴定曲綫开始时变为弯曲, 但对于滴定終点并無影响。我們在下列試驗中, 每 1000 毫升水醋酸中均加入 20—30 毫升醋酐以保証醋酸中不含水分。过多的醋酐刺激眼睛, 故不宜多加。

(三) 咖啡鹼的測定

精密秤取咖啡鹼一定量, 置比色管中, 加水醋酸 50 毫升, 輕輕攪拌使溶解后, 再加

孔雀綠指示劑 10 滴，置比色管架中。另取比色管一支，加水醋酸 50 毫升做為空白溶液，在 609 μ 處測量透光百分率。如上法徐徐滴加 HClO_4 標準溶液，每隔一定間隔測量透光百分率一次及畫出滴定曲線，求出滴定終點時 HClO_4 溶液用量。因孔雀綠及水醋酸（特別是在玻璃瓶中久置的水醋酸）需要消耗一定量的 HClO_4 溶液，所以需要做空白試驗一次；因空白試驗所需 HClO_4 溶液數量很少，故用 0.01N HClO_4 溶液滴定。 HClO_4 標準溶液樣品試驗消耗量減去空白試驗消耗量為實際需要量，由此計算咖啡鹼含量。各次試驗結果如下表。

表 2. 咖啡鹼分析結果表 (一)

樣品重量 (毫克)	HClO_4 溶液用量 (毫升)	HClO_4 溶液濃度 (N)	分析結果 (%)	變動值 (%)
52.5	2.42	0.1107	98.97	-0.74
61.97	2.85	0.1107	98.74	-0.97
52.7	2.84	0.0962	100.6	+0.89
99.4	5.33	0.1107	100.1	+0.31
106.5	5.06	0.1107	100.2	+0.41
102.8	4.78	0.1107	99.84	+0.13
202.7	9.44	0.1107	100.0	+0.29
201.5	9.32	0.1107	99.31	-0.40
214.8	9.92	0.1107	99.17	-0.54
308.7	14.30	0.1107	99.45	-0.28
302.9	14.20	0.1107	100.7	+0.99
302.7	14.17	0.1107	100.6	+0.89
406.2	18.73	0.1107	99.02	-0.69
408.8	18.92	0.1107	99.40	-0.31
408.9	18.96	0.1107	99.54	-0.17

平均 99.71 \pm 0.53

上面試驗的一部分數據所畫成的曲線如圖 4。從圖 4 及表 2 中可以看出咖啡鹼用量從 50 毫克到 400 毫克為止，溶液的吸光度與 HClO_4 標準溶液用量間成良好的直線形關係。實際分析時只需要採用 5 到 7 點即可準確地畫出終點。各次實驗間的平均誤差為 $\pm 0.5\%$ 左右。

為了證明樣品用量減到 5 毫克左右時是否仍可應用本法獲得相當的準確度起見，我們改取 5 毫克左右的樣品做了五次實驗，所得結果如表 3。

從表 3 可以看出即使樣品用量減到 5 毫克左右時，分析結果的平均誤差為 $\pm 1.5\%$ 左右。

(四) 茶鹼的測定

取不同量的茶鹼，用上法測定其含量，所得結果如表 4。

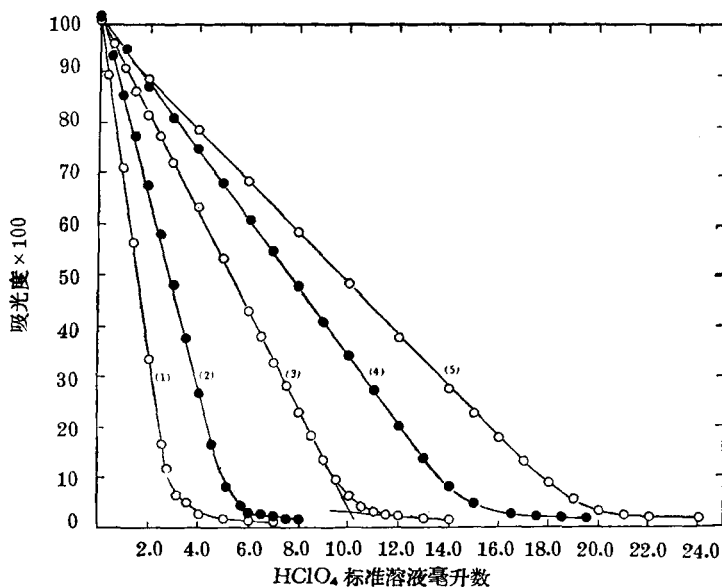


圖 4. 咖啡鹼滴定曲線

样品重量: (1)61.97 毫克; (2)106.5 毫克; (3)214.8 毫克; (4)308.7 毫克; (5)408.9 毫克。
所用 HClO_4 标准溶液浓度为 0.1107N

表 3. 咖啡鹼分析結果表(二)

样品重量 (毫克)	HClO_4 溶液用量 (毫升)	HClO_4 溶液浓度(N)	分析結果 (%)	变动值 (%)
5.45	2.50	0.1107	98.49	-1.38
4.85	2.29	0.1107	101.4	+1.53
5.22	2.40	0.1107	98.72	-1.15
5.00	2.30	0.1107	98.77	-1.10
4.55	2.16	0.1107	102.0	+2.13

平均 99.87 ± 1.46

表 4. 茶鹼分析結果表

样品重量 (毫克)	HClO_4 溶液用量 (毫升)	HClO_4 溶液浓度(N)	分析結果 (%)	变动值 (%)
48.9	2.82	0.0962	99.97	+0.74
52.2	3.01	0.0962	99.97	+0.74
46.8	2.69	0.0962	99.70	+0.47
100.8	5.76	0.0962	99.06	-0.17
102.1	5.82	0.0962	98.83	-0.40
103.6	5.96	0.0962	99.74	+0.51
111.8	6.36	0.0962	98.70	-0.53
99.9	5.73	0.0962	99.47	+0.24
206.1	11.83	0.0962	99.51	+0.28
202.0	11.61	0.0962	99.65	+0.42
199.4	11.50	0.0962	100.0	+0.77

平均 99.23 ± 0.48

从表 4 可以看出分析结果的误差也在 $\pm 0.5\%$ 左右。由于茶碱的过氧酸盐在冰醋酸中溶解度较小，茶碱用量不宜超过 200 毫克太多，不然在滴定过程中产生沉淀，使测量透光百分率发生困难，难于确定滴定终点所在。

(五) 可可碱的测定

取可可碱 51.6 毫克，置于 34 毫米比色管中，加冰醋酸 50 毫升及孔雀绿指示剂 10 滴，轻轻搅拌使之溶解后，如上法加 HClO_4 标准溶液及测定透光百分率，所得结果如表 5。

表 5. 可可碱滴定数据表

HClO_4 溶液用量 (毫升)	透光百分率	相当的吸光度	HClO_4 溶液用量 (毫升)	透光百分率	相当的吸光度
0	8.8	1.055	1.80	57.5	0.240
0.20	11.4	0.943	2.00	66.2	0.179
0.40	14.5	0.838	2.20	74.7	0.127
0.60	18.5	0.733	2.40	81.7	0.088
0.80	23.0	0.638	2.75	89.2	0.050
1.00	28.5	0.544	3.00	94.2	0.026
1.20	34.8	0.458	3.40	97.0	0.014
1.40	42.0	0.376	4.00	97.3	0.012
1.60	49.4	0.306	5.00	98.0	0.008

根据表 5，分别用透光百分率及吸光度为纵坐标，所用 HClO_4 标准溶液毫升数为横坐标，画成曲线得图 5。从图 5 上可以看出，用吸光度做纵坐标，所得曲线只有在开始

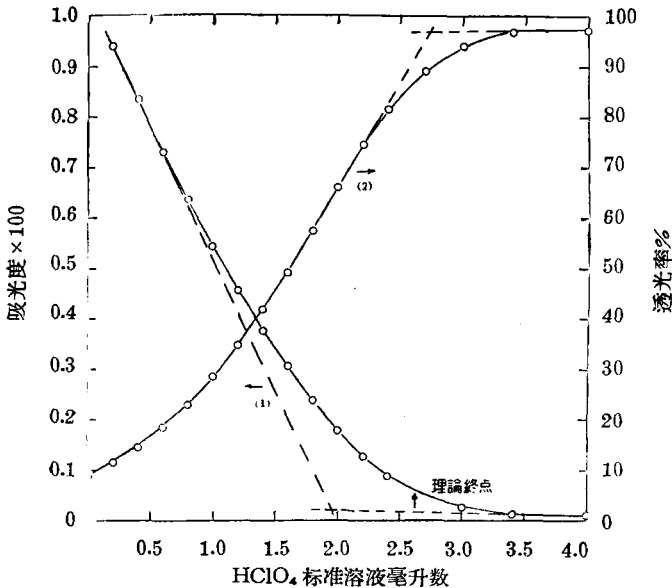


图 5. 可可碱的滴定曲线

(1) 用吸光度做纵坐标；(2) 用透光百分率做纵坐标。

部分成直綫形变化,由此直綫部分伸長所得交点与理論值相差甚远,但若改用透光百分率做縱座标,所得曲綫成直綫形变化的部分很長,画取交点也頗为明确,但由此所得終点經空白試驗校正后,所得分析結果有偏高的傾向,經多次試驗后始知相交点位置与所用孔雀綠指示剂数量,亦即滴定开始时的吸光度有关。各次試驗結果如表 6。

表 6. 可可鹼分析結果表

样品重量 (毫克)	孔雀綠 0.05% (滴数)	开始之 $T\%$	HClO ₄ 溶液 用量 (毫升)	HClO ₄ 溶液 濃度 (N)	分析結果 (%)	变动值 (%)
40.0	10	8.8	2.40	0.0962	103.9	-0.9
44.8	10	7.5	2.66	0.0962	102.8	-0.2
51.0	10	8.0	3.02	0.0962	102.5	-0.5
50.7	10	7.4	3.01	0.0962	102.6	-0.4
51.6	10	8.8	2.67	0.1107	103.2	+0.2
平均 103.0 ± 0.44						
47.0	3	42.8	2.26	0.1107	96.34	+1.5
54.4	3	42.7	2.55	0.1107	93.50	-1.34
45.4	3	44.5	2.19	0.1107	96.20	+1.36
43.5	3	47.7	2.06	0.1107	94.48	-0.36
47.5	3	46.5	2.57	0.0962	93.69	-1.15
平均 94.84 ± 1.14						
43.2	7	14.2	2.50	0.0962	100.2	+0.45
47.1	7	14.5	2.70	0.0962	99.28	-0.47
46.4	7	15.8	2.69	0.0962	100.4	+0.65
47.8	7	14.6	2.74	0.0962	99.28	-0.47
43.4	7	17.0	2.48	0.0962	99.04	-0.71
46.8	7	16.5	2.69	0.0962	99.56	-0.19
51.0	7	17.5	2.96	0.0962	100.5	+0.75
平均 99.75 ± 0.52						

由表 6 可知,所加孔雀綠指示剂量多則分析結果偏高,量少則偏低,只有当所加指示剂为 7 滴或起始透光百分率在 16% 左右,所得結果与用碘滴定法^[45]所得結果 99.6% 頗为接近。

結 論

1. 提出了嘌呤族生物鹼的非水溶液分光光度滴定法。
2. 咖啡鹼及茶鹼可用吸光度对标准溶液毫升数画滴定曲綫,所得終点經空白試驗校正后,計算含量結果良好。
3. 可可鹼滴定曲綫宜改用透光百分率对标准溶液毫升数来繪画,且所用孔雀綠指

示剂之量,在滴定开始前应保持透光百分率在 16% 左右。

4. 本法的平均誤差在 $\pm 0.5\%$ 左右。

参 考 文 献

- [1] Association Official Agricultural Chemists, *Official and Tentative Methods of Analysis*, 6th ed., 1945, 18. 14, p. 217.
- [2] Crowell, G. K., *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists*, 1946, **29**, 38.
- [3] Assoc. Offic. Agr. Chemists, *J. Ass. Offic. Agr. Chemists*, 1947, **30**, 70-71.
- [4] Hadorn, H. & Jungkunz, R., *Mitt. Lebensm., Hyg.*, 1949, **40**, 190-201.
- [5] Taylor, A. & Taylor, D., *J. Analyst*, 1949, **74**, 463.
- [6] Bower, R. S., Anderson, A. D. & Titus, W. R., *J. Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, 1950, **22**, (8), 1056-1058.
- [7] 中华人民共和国藥典, 1953年版, 110 及 129 頁。
- [8] Evers, N. & Elson, G. D., *Analysis of Drugs and Chemicals*, 1929, p. 134, 135, 175.
- [9] Pifer, C. W. & Wollish, E. G., *Anal. Chem.*, 1952, **24**, 300.
- [10] Poulous, A., *Anal. Chem.*, 1952, **24**, 1858.
- [11] Fritz, J. S. & Fulda, M. O., *Anal. Chem.*, 1953, **25**, 1837.
- [12] Pernarowski, M., *Drug standards*, 1953, **21**, 189.
- [13] Mika, J., *A. Anal. Chem.*, 1948, **128**, 159.
- [14] Field, J. 2nd & Baas Becking, L. G. M., *J. Gen. Physiol.*, 1925, **9**, 445.
- [15] Muller, R. H. & Partridge, H. M., *Ind. Eng. Chem.*, 1928, **20**, 423.
- [16] Partridge, H. M., *J. Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, 1930, **2**, 207.
- [17] Somiya, T. & Shiraishi, S., *J. Soc. Chem. Ind. (Japan)*, Supplemental Binding, 1930, **33**, 300B.
- [18] Hickman, K. & Sanford, C. R., *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, 1933, **5**, 65.
- [19] Hirano, S., *J. Soc. Chem. Ind. (Japan)*, Supplemental Binding, 1934, **37**, 177B.
- [20] Muller, F., *Z. Elektrochem.*, 1934, **40**, 46.
- [21] Russell, W. W. & Latham, D. S., *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, 1934, **6**, 463.
- [22] Gonzales, F., *IX th Congr. Intern. Quim. Pure Aplicada (Madrid)*, 1934, **6**, 70.
- [23] Kasai, Y. & Takii, S., *Repts. Imp. Ind. Research Inst. (Osaka, Japan)*, 1935, **16**, No. 3, 1.
- [24] Somiya, T. & Nakamura, Y., *J. Soc. Chem. Ind. (Japan)*, Supplemental Binding, 1935, **38**, 262B.
- [25] Campo, A. Del., Burriel, F. & Escolar, L. G., *Anales. Soc. espan., fis. y quim.*, 1936, **34**, 829; *Bol. Acad. Cienc. (Madrid)*, 1936, **2**, No. 7, 10.
- [26] Muller, R. H. & McKenna, M. H., *J. Am. Chem. Soc.*, 1936, **58**, 1017.
- [27] Rowland, G. P., *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, 1939, **11**, 442.
- [28] Muller, R. H., *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, 1939, **11**, 1.
- [29] Alyea, H. N., *J. Chem. Educ.*, 1941, **18**, 57.
- [30] Osborn, R. H., Elliott, J. H. & Martin, A. F., *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, 1943, **15**, 642.
- [31] Havemann, R., *Chem. Zentr.*, 1944, **II**, 1304.
- [32] Zamecnik, P. C., Levin, G. I. & Bergman, M. J., *J. Biol. Chem.*, 1945, **158**, 537.
- [33] Somiya, N. & Kamada, H., *J. Japan. Chem.*, 1947, **1**, 63.

- [34] Nichols, M. L. & Kindt, B. H., *Anal. Chem.*, 1950, **22**, 781.
[35] Juliard, A., van Cakenberghe, J., and Heitner, C., *Ind. Chim. Belge*, 1952, **17**, 25.
[36] Bobtelsky, M. & Bar-Gadda, I., *Bull. Soc. Chim.*, 1953, 276.
[37] Goddu, R. F. & Hume, D. N., *Anal. Chem.*, 1950, **22**, 1314.
[38] Goddu, R. F., Ph. D. Thesis, *Massachusetts Institute of Technology*, 1951.
[39] Bricker, C. E. & Sweetser, P. B., *Anal. Chem.*, 1952, **24**, 409.
[40] Sweetser, P. B. & Bricker, C. E., *Anal. Chem.*, 1953, **25**, 253.
[41] Marple, T. L., Ph. D. thesis, *Massachusetts Institute of Technology*, 1954.
[42] Sweetser, P. B. & Bricker, C. E., *Anal. Chem.*, 1954, **26**, 195.
[43] Goddu, R. F. & Hume, D. N., *Anal. Chem.*, 1954, **26**, 1740-1746.
[44] Autenrieth & Keller, *Quantitative Chemische Analyse*, 1951, p. 207.
-

SPECTROPHOTOMETRIC TITRATIONS OF CAFFEINE, THEOBROMINE AND THEOPHYLLINE IN NONAQUEOUS SOLVENTS

TSAO KING-HUNG, LOO YUN-CHIENG AND TANG TENG-HAN

ABSTRACT

Spectrophotometric titrations of caffeine, theobromine and theophylline in nonaqueous solvents were studied and the proposed analytical procedure is outlined below:

Dissolve about 50 mg of sample in 50 ml of glacial acetic acid, titrate the solution with standard acetous perchloric acid solution, at wave length of 609 $m\mu$, using malachite green as indicator. Take absorbancy readings at every convenient intervals, until at least three readings are taken beyond the end point. The end point is then determined by plotting the absorbancy against volume of acetous perchloric acid for caffeine and theophylline, and percentage transmission against volume of acetous perchloric acid solution for theobromine.

The relative error of this method is $\pm 0.5\%$ in macroscale, and is up to $\pm 1.5\%$ in semimicro and micro scales.