

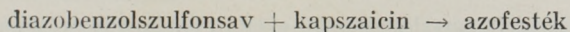
## A kapszaicin meghatározása polarometriás titrálással

SPANYÁR PÁL, KEVEI JÁNOSNÉ, KISZEL JÓZSEFNÉ  
Konzerv-, Hús- és Hűtőipari Kutató Intézet, Budapest.

*Érkezett: 1956. augusztus 6*

Korábbi közleményeinkben (1,7) rámutattunk arra, hogy a kapszaicin p-diazobenzolszulfonsavval színes azovegyületet alkot, és a reakciókeverékben — megfelelő körülmények mellett — a színeződés erőssége a kapszaicin mennyiségével arányos. Ennek alapján vizsgálati eljárást dolgoztunk ki fűszerpaprika, csemegepaprika, továbbá kapszaicin készítmények kapszaicin tartalmának megállapítására. A módszer igen jó eredményeket ad, egyetlen hátránya, hogy a vizsgálandó anyagból a kísérő festékanyagokat teljes mértékben el kell távolítani, ami az eljárást viszonylag hosszúvá teszi.

A vizsgálat idejének megrövidítése érdekében megkíséreltük, hogy a fenti reakció alapján, de viszonylag kevésbé tisztított oldatban polarometriás titrálással határozzuk meg a kapszaicin mennyiségét. Ha ugyanis a



reakciókeveréket polarografáló berendezésben vizsgáljuk, a jelenlevő anyagok közül — megfelelő (-0,4 V) áramfeszültség mellett és egyéb, pontosan előírt körülmények betartása esetén — sem a kapszaicin, sem a kapszaicinból és a diazobenzolszulfonsavból keletkező azofesték a diffúziós áram erősségét nem emeli, tehát a készülék galvanométere kitérést nem mutat. A kapszaicin ugyanis — az adott körülmények között — nem redukálható, a keletkező azofesték leválási potenciálja pedig jóval (200 mV-tal) negatívabb, mint a szabad diazobenzolszulfonsav első lépcsőjének leválási potenciálja (2). Ha azonban a reakciókeverékben szabad p-diazobenzolszulfonsav van jelen, annak redukciója folytán keletkező diffúziós áram erőssége a galvanométerben kitérést okoz, és ennek mértéke a feleslegben levő diazobenzolszulfonsav mennyiségével arányos. Ha tehát a vizsgálandó kapszaicin oldathoz részletekben addig adunk ismert mennyiségű diazobenzolszulfonsav oldatot, míg a galvanométer

kitérést nem jelez, illetőleg azon túl ismert mennyiségű oldat részlegek hozzáadásával a hozzá tartozó galvanométer kitéréseket mérjük, a nyert adatokból ismert módon (3, 2) a kapszaicin mennyisége meghatározható.

Annak meghatározására, hogy a reakció milyen körülmények közt ad megbízható és reprodukálható eredményeket, modellkísérletekben különböző ismert kapszaicin tartalmú oldatokkal végeztünk vizsgálatokat. A megfelelő körülmények megállapítása után kapott vizsgálati eredményeket az I. táblázatban foglaltuk össze.

A módszer kidolgozása után különböző kapszaicin tartalmú anyagok hatóanyag tartalmát mértük meg. Ellenőrzésül ugyan-ezen anyagok kapszaicin tartalmát fotometriás eljárásunkkal (1) is meghatároztuk. Az eredményeket a II. táblázat adja.

A táblázatokból látható, hogy modellkísérletekben a bemért és talált értékek különbsége az 5%-ot sohasem haladja meg. Kapszaicin tartalmú anyagokban a kétféle mérés értékei között pedig 10%-nál nagyobb eltérés nem tapasztalható. Ez a viszonylag gyorsabb módszer tehát jól felhasználható fűszer-, csemegepaprikák, továbbá kapszaicin tartalmú készítmények hatóanyagtartalmának mérésére, feltéve, ha azok kapszaicin-tartalma — a kb. 20% nedveségtartalmú anyagra számítva — 30 mg/100 g alá nem esik. A módszer előnye nem csupán az, hogy az előkészítő eljárás lényegesen meg rövidül, hanem a tényleges mérésre kerülő anyag mennyisége itt viszonylag nagyobb lehet, tehát a hígítás okozta hibák elkerülhetők.

I. táblázat

**Ismert kapszaicin tartalmú modell-oldatok hatóanyagtartalma mg/25 ml**

Bemért	Titrálással kapott
kapszaicin tartalom	
1,50	1,55
2,03	2,04
2,50	2,53
3,00	3,06
3,30	3,39
3,64	3,59
4,08	4,03
4,08	3,93
4,08	4,07



A vizsgálati eljárás részletes leírása a következő.

*I. Vegyszerek :*

- (1) éter pur. peroxid mentes,
- (2) 57%-os alkohol
- (3) extrakciós benzín (f. p. 80—100 C°),
- (4) m/5 NaOH oldat,
- (5) m/5 H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> oldat,
- (6) m/5 KCl oldat,
- (7) 0,05%-os zselatin oldat,

*II. táblázat*

**Kapszaicin tartalmú termékek hatóanyagtartalma mg/100 g**

Sor-szám	Minta neve	Polarometriás titrálással	Fotometriás eljárással
1.	Fűszerpaprika fél édes .....	20	19
2.	Fűszerpaprika rózsá .....	27	24
3.	Fűszerpaprika erős .....	31	31
4.	Szegedi paprika 91/95 .....	50	46
5.	Paprikaér őrlemény .....	136	150
6.	Paprikaér őrlemény .....	176	175
7.	Paprikaér őrlemény .....	243	225
8.	Paprikaér őrlemény .....	262	251
9.	Paprikaér őrlemény .....	325	321
10.	Paprikaér őrlemény .....	398	375
11.	Paprikaér őrlemény .....	461	500
12.	Oleorezin készítmény .....	1650	1560
13.	Oleorezin készítmény .....	2050	2170

(8) kristályos p-diazobenzolszulfonsav. Elkészítése a következő : (4) : 3 g szulfanilsavat kb. 45 ml 4%-os nátronlúgban oldunk, majd 12 ml 10%-os NaOH oldattal elegyítjük. Az egészet választótölcsérből lassan 9 ml jégbehűtött 25%-os sósavba csurgatjuk. A kiváló diazobenzolszulfonsavat G4 üvegszűrőn leszűrjük, kb. 200 ml jeges vízzel, 75 ml ugyancsak lehűtött metilalkohollal és 75 ml éterrel kimossuk, majd megszáritjuk. A készítmény — szárító edénykébe téve — exsikkátorban 4—5 napig eltartható. A bomló készítményt elsárgult színe árulja el.

(9) 1,00 mg/ml töménységű vizes p-diazobenzolszulfonsav oldat. A kristályos készítményből naponta frissen készítendő és felhasználásig hideg helyen tartandó. A kristályos készítmény kb. 10 alkalommal használható fel oldat készítésére, feltéve, hogy ez az eltartási időn belül felhasználásra kerül. Szükség esetén az oldat töménységének ellenőrzése, ill. a kapszaicin : diazoniumszulfonsav reakció egyen-

érték számának megállapítása 5—8 ml ismert töménységű kapszaicin oldattal (10) történhetik.

(10) Kapszaicin oldat 40 mg kristályos kapszaicint 100 ml 0,05 m NaOH-ban oldunk. Kétely esetén a kapszaicin oldat töménysége fotometriás eljárással ellenőrizendő.

## II. A vizsgálandó anyag előkészítése.

A vizsgálandó anyag kapszaicin tartalmától függően fűszerpaprikából 5—6 g-ot, paprikaőrleményből 1—2 g-ot 50 ml-es dugós rázóhengerbe mérünk, kb. 3 ml 57%-os alkohollal megnedvesítjük és kétszer 30 ml éterrel kirázzuk. Az éteres kirázás mindkét esetben 10 percig tart, utána — a tiszta éteres részt (amely a paprikafestékektől élénk piros színű) — kvantitatív szűrőpapíron leszűrjük. A szűrőpapírt kevés éterrel utánmossuk, és az éteres kivonatokat 100 ml-es fracionáló lombikban egyesítjük. Ebből az étert 45—50 °C-os vízfürdőn desztilláljuk le mindaddig, míg csak a piros színű paprikafestékes olajos rész marad vissza. Ez a kivonat tartalmazza a kapszaicint is. A visszamaradt részt négyszer 5 ml 57%-os alkohollal választótölcsérbe mossuk, és a fracionáló lombik falára tapadt festéket 30 ml extrakciós benzinnel felvéve az előbbi választótölcsérbe visszük. Az alkoholos, benzines elegyet 5 percen át rázzuk, majd 1—2 g kristályos NaCl-ot adunk hozzá. 10 perc állás után az elegy élesen két réteggé válik szét, amelyből az alsó, alkoholos, kapszaicint tartalmazó oldatot porcelántálba engedjük. A benzines részt még egyszer 10 ml 57%-os alkohollal kirázzuk, és a szétválás után az alsó réteget az előbbi porcelántálba öntjük.

Az egyesített sárgás színű alkoholos oldathoz 2,7 ml m/5-ös nátronlúgot adunk, majd vízfürdőn 85—90 °C között alkoholmentesre pároljuk, és a hűtés után 25 ml-re feltöltjük. Ezt az oldatot használjuk fel a polarometriás vizsgálatra. Meghatározásra csak olyan oldat alkalmas, amely 25 ml-ben 1,50—3,50 mg kapszaicint tartalmaz. Ha az előkészített oldat töménysége 3,50 mg/25 ml-nél nagyobb, azt *Clark-Lubs* puffer oldattal (4,5) a szükséges mértékig felhígítjuk.

Oleorezin készítményből — annak kapszaicin tartalmától függően — 0,7—1,5 g-ot mérünk le, azt száraz üveg dugós 100 ml-es normál lombikba visszük, és extrakciós benzinnel feloldva ugyancsak benzinnel 100 ml-re feltöltjük. Összerázás után 20 ml-t kiveszünk a benzines törzsoldatból, rázó-tölcsérbe engedjük, a pipettát még kb. 10 ml tiszta benzinnel utánmossuk, és a benzines kapszaicines oldatból a kapszaicint először 20 ml, másodszer pedig 10 ml 57%-os alkohollal kivonjuk.

Az egyesített alkoholos kivonatot a továbbiakban úgy kezeljük, mintha a paprikaőrlemény-mintából származott volna.

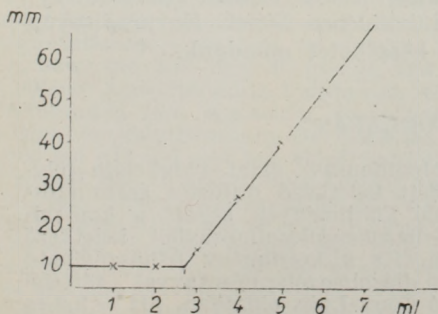


### III. Polarometriás titrálás.

A titrálást *Heyrovsky*-féle polarográf segítségével végezzük. Katódként csepegő higanyelektrodot, anódként pedig telített kalomel-elektrodot használunk. A titrálás alatt 2 V össz feszültség mellett a rákapcsolt potenciál  $-0,4$  V. Az áramerősség változását a tükrös galvanométer kitérése alapján figyeljük meg. A titrálásnál állandó galvanométer-érzékenységgel dolgozunk (pl. 1/20). A vizsgálandó oldatot a következőképpen állítjuk össze :

- 25 ml előkészített vizsgálandó oldat (II. szerint) :
- 3,15 ml  $m/5$  KCl oldat,
- 3,15 ml  $m/5$   $H_3BO_3$  oldat,
- 1 ml 0,05%-os zselatin oldat,
- 17,7 ml desztillált víz.

A titrálendő oldat össz mennyisége 50 ml, pH-ja 9,0. Mint látható, lényegében *Clark-Lubs*-féle pufferoldatban dolgozunk, melyet hasonló célokra *A. Jindra* és munkatársai (2) ajánlanak. Az így összeállított oldatot jeges vízben  $10^\circ C$  alá hűtjük, és 5 percen keresztül nitrogéngázáramot vezetünk át rajta, majd a polarográf galvanométer-skálájának 0-pontját beállítjuk. Ezután frissen készített diazóniumszulfonsavas oldatból (9) pontosan 1—1 ml-t adunk a vizsgálandó oldathoz. Minden ml mérőoldat hozzáadása után 3 percen át újra nitrogén gázáramot hajtunk keresztül az oldaton, majd a nitrogén-áram lezárása után megvizsgáljuk a galvanométer kitérését. Mindaddig, míg a galvanométer kitérést nem mutat, a diazobenzolszulfonsav oldatot a kapszaicin leköti, tehát a rendszerben ebből felesleg nincsen. Ha a titrálás folyamán a galvanométer kitérést mutat, az azt jelenti, hogy a diazóniumszulfonsav már feleslegbe került. A titrálás értékeit az alábbi rajz szerint grafikonba foglaljuk. A grafikon alapján az eredmény kiszámítható.



Amperometriás titrálás értéklése. Az abszcisszán a titrálásra felhasznált p-diazónium-szulfonsav ml-einek számát, az ordinátán pedig a korrigált galvanométer kitérést ábrázoljuk mm-ben. A titrálás ekvivalencia pontja a két egyenes metszéspontjánál, jelen esetben 2,7 ml-nél van.

Mint látható, a grafikont úgy vesszük fel, hogy a titrálás eredményét olyan koordináta rendszerben rögzítjük, ahol az abszcisszán a felhasznált diazobenzolszulfonsav oldat ml-ben, az ordinátán pedig — a galvanométer kitérése miliméterekben van feltüntetve. A titrálás folyamán keletkező hígulás okozta hiba kiküszöbölésére a leolvasott galvanométer kitéréseket ismert módon (3, 6) korrigálni kell. A grafikonra ezek a korrigált értékek kerülnek. A nyert pontokat összekötve olyan görbét kapunk, melyen éles törés látható. A görbe töréspontjának megfelelő diazoniumsó mennyisége (ml) arányos a vizsgált oldat kapszaicin tartalmával. A titrálást úgy kell végezni, hogy a görbe vízszintes részén — tehát az ekvivalencia pont előtt — legalább 2—3 pontot, a meredek részben az ekvivalencia pont után 3—4 pontot vegyünk fel. Az így kapott eredmény alapján a vizsgálandó anyag kapszaicin tartalma a következő képlet szerint számítható ki:

$$K = \frac{a \cdot b}{g} \cdot 100$$

ahol

$K$  = a vizsgált anyag kapszaicin tartalma (mg/100 g)

$a$  = a görbe töréspontjának megfelelő diazoniumsó oldat mennyisége (ml),

$b$  = a kapszaicin-diazobenzolszulfonsav reakció egyenérték száma, értéke az előírt körülmények között 0,97,

$g$  = a vizsgálatra lemért anyag mennyisége (g).

Kapszaicin tartalmú anyagokból készült oldatok polarometriás titrálásánál csaknem minden esetben előfordul, hogy az első ml diazobenzolszulfonsav oldat hozzáadása után egyes zavaró anyagok maradék áramot hoznak létre, amely a galvanométert kitéríti. Ilyen esetben a maradék áramot ismert módon (3, 6) kompenzálni kell. A feleslegben levő diazobenzolszulfonsav oldat okozta kitérésnek csupán a teljes kompenzáció után jelentkező kitérést szabad tekinteni.

A kísérletek technikai keresztülvitelében *Simek Ferencné* nyújtott segítséget, amelyért őszinte köszönetet mondunk.

## ÖSSZEFOGLALÁS

Polarográfban a p-diazobenzolszulfonsav oldat redukciója folytán megfelelő áramfeszültség mellett keletkező diffúziós áram erőssége mérhető. Ugyanakkor hasonló körülmények között a kapszaicin, illetőleg a kapszaicin és a p-diazobenzolszulfonsavból keletkező azovegyület közömbös viselkedésű. Ez a körülmény felhasználható a kapszaicin meghatározására, p-diazobenzolszulfonsavval történő polarometriás titrálással. A reakció Clark-Lubs oldatban,  $\text{pH} = 9,0$ -es



közegben, 0,4 V feszültség mellett megy végbe. A titrálandó oldat kapszaicin-tartalma 1,5–3,5 mg/25 ml lehet. Az eljárással a fűszer- és csemegepaprika, továbbá a kapszaicin-tartalmú készítmények hatóanyagtartalma jól meghatározható, ha azokban a kapszaicin-tartalom — 20% nedvességtartalmú anyagra számítva — 30 mg/100 g-nál nem kevesebb. A módszer egyszerűbb és gyorsabb, mint az eddigi eljárások, hibája  $\pm 10\%$ -nál kisebb.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАПСАИЦИНА ПРИ ПОМОЩИ ПОЛАРИМЕТРИЧЕСКОГО ТИТРОВАНИЯ

*П. Шпаняр, Я. Кевеи, И. Кисель*

При редукции раствора р-дiazобензолсульфокислоты, в случае соответственного напряжения тока, мощность возникающего диффузионного тока измерима в полярографе. При таких же условиях капсаицин и азосоединение капсаицина с р-дiazобензолсульфо кислотой не вызывают образование диффузионного тока. Это обстоятельство возможно применить для определения капсаицина при помощи поляриметрического титрования с р-дiazобензолсульфо кислотой. Реакция происходит в растворе Клерк-Лабс при рН—9,0, при напряжении 0,4 V. Допускаемое содержание капсаицина при определении 1,5—3,5 мг/25 мл. При помощи метода возможно определить содержание действующего вещества в красном и в съедобном перце а также в разных изделиях содержащих капсаицин, если содержание капсаицина в них не меньше чем 30 мг/100 г при 20 процентной влажности.

Метод менее сложный и требует мало времени по сравнению со существующими способами. Ошибка способа меньше чем  $\pm 10\%$ .

## BESTIMMUNG VON KAPSAICIN MITTELS POLARIMETRISCHER TITRATION

*P. Spányár, Frau J. Kevei, Frau J. Kiszler*

Die Intensität des Diffusionsstromes, welcher im Polarograph bei entsprechender Stromspannung durch die Reduktion der p-Diazobenzolsulfonsäure entsteht, ist messbar. Zu gleicher Zeit ist das Kapsaicin, bzw. die aus dem Kapsaicin und p-Diazobenzolsulfonsäure entstandene Azoverbindung indifferent. Dieser Umstand ermöglicht die Bestimmung vom Kapsaicin durch polarimetrische Titration mittels p-Diazobenzolsulfonsäure. Die Reaktion geht in der Lösung von Clark-Lubs bei pH 9,0 und bei einer Spannung von 0,4 vor. Der Kapsaicin-gehalt der zu titrierenden Lösung soll zwischen 1,5—3,5 mg/25 ml sein. Mit diesem Verfahren ist der Wirkstoffgehalt von Gewürz- und Delikatesspaprika weiter von Kapsaicin enthaltenden Erzeugnissen falls deren Kapsaicin-gehalt auf 20% Wasser enthaltende Substanz gerechnet nicht weniger als 30 mg/100 g beträgt — gut bestimmbar. Die Methode ist einfacher und rascher ausführbar, als die bisherigen Verfahren, und die Fehlergrenze liegt unter  $\pm 10\%$ .

## DETERMINATION OF CAPSAICIN BY POLAROMETRIC TITRATION

*P. Spanyol, Mrs. J., Kevei and Mrs. J. Kiszal*

The intensity of the diffusion current developed at an adequate potential by the reduction of a solution of p-diazo benzene sulphonic acid proved to be measurable by polarography. At the same time, capsaicin and, respectively, the azo-compound formed from capsaicin and p-diazobenzene sulphonic acid are not reduced on the dropping mercury cathode. These facts may be utilized in the determination of capsaicin, applying polarometric titration with the use of p-diazobenzene sulphonic acid. The titration is to be carried out in a *Clark-Lubbs* solution in a medium of pH 9,0 at a potential of  $-0,4$  v. The capsaicin content of the solution to be tested should range from 1,5 to 3,5 mg/25 ml. The method proved suitable for the determination of the capsaicin content of fresh and ground paprika, and of various capsaicin-containing preparations, provided the capsaicin content was not below 30 mg/100 g, referred to substance of 20% moisture content. The method is simpler and quicker than other processes applied so far, its mean error being less than  $\pm 10\%$ .

## DOSAGE POLARIMETRIQUE DU CAPSAÏCINE

*P. Spanyol, Mme. J. Kevei et Mme J. Kiszal*

Dans le polarographe, avec une tension convenable on peut mesurer l'intensité de courant de la diffusion, s'élevant par la réduction de la solution d'acide de p-diazobenzolsulphonique. En même temps, dans des conditions analogues la capsïcine, ou bien le composé azoïque du capsïcine avec l'acide de p-diazobenzolsulphonique se comporte indifférente. Ce fait on peut utiliser pour l'estimation du capsïcine par dosage polarimétrique avec l'aide d'acide de p-diazobenzolsulphonique. La réaction se passe dans la solution *Clark-Lubs*, avec une pH de 9,0 et une tension de 0,4 V. La teneur en capsïcine de la solution doit être 1,5—3,5 mg/25ml. Avec cette méthode on peut déterminer la teneur en capsïcine dans le piment rouge et vert, en outre la matière active dans les produits de capsïcine, si la teneur en capsïcine — compté à la matière avec une teneur en eau de 20% — n'est moins, que 30 mg/100 g. Cette méthode est plus simple et plus rapide, que les méthodes employées jusqu'à présent, le défaut ne dépasse pas  $\pm 10\%$ .

## IRODALOM

- (1) *Spanyal P., Kevei Jánosné, Kiszal Józsefné: Élelmezési Ipar, 10, 51 (1956)*
- (2) *Jindra, A., Kalvoda, R. Zyka: Collection Czechosl. Chem. Commun 15, 797 (1950)*
- (3) *Heyrovsky, I. Zuman, P: Bevezetés a gyakorlati polarográfiába, Budapest, 1955*
- (4) *Schulte K. E., u. Kruger H. M.: Z. Anal. Chem. 147, 266 (1950)*
- (5) *Mansfield Clark W.: Topics in Physical Chemistry, 283 (1948)*
- (6) *Stackelberg, M: Polarographische Arbeitsmethoden, Berlin (1950)*
- (7) *Spanyal P., Kevei Jánosné, Kiszal Józsefné, Simek Ferencné: Élelmezési Ipar 10, 193 (1956).*