

## METODE DE DETERMINARE A CONȚINUTULUI ÎN CAPSAICINĂ DIN ARDEI (FRUCTUS CAPSICI)

C. Csedő, P. Horváth M., Sz. Nagy

În terapeutică ardeii se întrebuițează ca rubrefiant. Farmacopeea Română ed. VII-a nu prevede o metodă de dozare a capsaicinii, principiul activ al acestui produs. În consecință nu se poate exclude întrebuițarea formelor de ardei dulce. Pe baza descrierilor morfologice din tratate și farmacopeii nu se poate face o diferențiere precisă între formele de ardei iute și dulce, iar deosebirea acestor forme pe cale microscopică, în cazul pulverilor este imposibilă.

La noi în țară se cultivă mai ales soiurile de ardei dulce cu un conținut în capsaicină variind între 10—40—100 mg%. Recent am aflat că în regiunea Oradea se fac lucrări de ameliorare pentru obținerea soiurilor cu conținut redus în capsaicină. Din cauza celor spuse mai sus este necesară dozarea conținutului corespunzător (150—200 mg%) de capsaicină al produselor de ardei iute întrebuițate în scopuri terapeutice, în laboratoarele regionale de control al medicamentelor, respectiv în farmacii. Necesitatea dozării capsaicinii este justificată și de faptul că unitățile noastre farmaceutice procură necesarul de ardei din comerț, efectuându-se doar un control organoleptic. Din toate acestea reiese că este justificată introducerea unei metode de dozare a capsaicinii în monografia *Fructus capsici* din noua ediție a farmacopeii. Vom propune introducerea în noua ediție a farmacopeii a unei metode exacte de dozare a capsaicinii, care să se poată efectua ușor în orice laborator de control. Propunem pentru analiza preliminară un procedeu simplu care se poate efectua și în farmacii.

În comunicarea de față am supus unui studiu critic metodele de dozare a capsacinei descrise în literatură, prezentînd totodată rezultatele analizelor obținute de noi.

Capsaicina nu este un alcaloid caracteristic și nu se poate determina cu metode analitice simple (titrimetrice). Din literatura consultată rezultă că determinarea cantitativă se poate efectua pe baza următoarelor reacții: 1. capsaicina reduce acidul fosformolibden sulfuric, cu apariția unei colorații albastre; 2. capsaicina reduce sărurile de vanadiu cu apariția unei colorații verzi; 3. capsaicina dă o colorație roșie cu acidul diazobenzen sulfonic. Reacția are loc în mediu acid, însă dozarea se poate face numai pe baza colorației vișinii, care apare în mediu bazic; 4. cantitatea de capsaicină care ia parte la formarea colorantului azoic poate fi determinată pe cale polarometrică; 5. capsaicina se poate titra cu acid picric pe baza fluorescenței.

Din metodele bazate pe reacțiile de mai sus, cea mai răspîdită este metoda bazată pe reacția cu vanadat. După *Spanyar* cele mai exacte procedee de determinare se bazează pe formarea coloranților azoici. În lucrarea de față ne ocupăm de studiul și modificarea metodelor bazate pe aceste două principii.

#### Partea experimentală

1. Standardul de stat pentru ardei prescrie determinarea capsacinei cu ajutorul metodei colorimetrice cu metavanadat de amoniu. Urmînd prescripțiile STAS-ului nu am putut obține în fiecare caz o serie de comparație. Aceasta se datorește faptului că extractul obținut după prescripțiile STAS-ului conține o cantitate însemnată de coloranți proveniți din 2 g produs extras cu 10 ml acetonă. STAS-ul nu ține seama de conținutul în capsaicină al ardeiului dulce, care se adaugă întotdeauna la seria de comparație, mărind intensitatea culorii și prin aceasta reducînd conținutul în capsaicină al substanței analizate. După părerea noastră, cantitatea de 0,10 g metavanadat de amoniu este prea mare. Pentru reacție este suficientă o cantitate de 0,05 g. A fost necesară extinderea seriei de comparație, luîndu-se în loc de 0,0 mg%—100mg% o serie de la 0,0 mg% la 200 mg%. Prin aceste modificări am obținut rezultate suficient de precise.

Pregătirea seriei de comparație se efectuează astfel: se cîntăresc 5 g drog cu o precizie de 0,01 g (de umiditate cunoscută) și se introduc într-un balon cu 25 ml acetonă și se agită timp de 10 minute. Soluția se centrifughează sau se decantează după un repaus de 2—3 ore, se introduce apoi în eprubete cu același diametru și se adaugă următorii reactivi:

A. 1 ml extract limpede de ardei dulce.

B. 0,0; 0,10; 0,25; 0,50; 0,75; 1; 1,25; 1,50; 1,75; 2 ml soluție de capsaicină în acetonă 0,1%. Conținutul eprubetelor se completează cu acetonă, la 5 ml, se agită și se adaugă 0,2 ml acid clorhidric 36% și 0,05 g metavanadat de amoniu cristalizat. Se omogenizează și se compară eprubetele.

Din substanța de analizat, independent de cantitatea de capsaicină, se cîntăresc 1—2 g și se adaugă 10 ml acetonă. Din extractul acetonic se iau 5 ml și se lucrează ca mai sus.

Tabelul Nr. 1.

Mostra	Cantitatea obținută cu procedeele modificate	Capsaicină adăugată	Capsaicina obținută	Diferența
	mg%	mg%	mg%	%
Nr. 1 (iute)	400	50	450	0
Nr. 2 (iute)	50	50	87,5	-12,5

Din tabelul nr. 1 rezultă că metoda bazată pe dozarea cu metavanadat de amoniu, modificată de noi, se poate întrebuiți în condiții optime pentru analizele preliminare, eroarea nefiind mai mare de 10—12%.

2. În cazul metodei fotocolorimetrice a lui *Spanyar*, pentru a controla exactitatea metodei am determinat conținutul în capsaicină din două mostre, cu care am efectuat paralel și experiența model.

*Descrierea metodei.* Se introduc într-un balon cotel de 50 ml 1 g ardei iute sau

4 g ardei dulce și se umectează cu 3 ml alcool 57% și se agită apoi timp de 10 minute de două ori cu câte 30 ml eter (fără peroxid) lăsându-se 3—4 minute în repaus pentru depunere, iar stratul eteric de culoare roșie se filtrează printr-o hirtie de filtru cantitativă care se spală apoi cu eter. Extractele eterice se introduc într-un balon de distilare de 100 ml și se distilează eterul pe baia de apă la 45—50°, pînă cînd rămîne un reziduu uleios, roșu (care conține capsaicină). Reziduuul se spală de 4 ori cu câte 5 ml alcool 57% într-o pilnie de separare. Colorantul care a aderat de pereții balonului se spală cu 30 ml benzină și această soluție se introduce în pilnia de separare. Amestecului de alcool și benzină i se adaugă 1 g clorură de sodiu și se agită timp de 5 minute. Se lasă 10 minute în repaus pentru separarea celor două straturi. La partea inferioară, în soluția alcoolică, se găsește capsaicina, care se trece într-un balon de distilare de 100 ml. Benzina din pilnia de separare se mai agită o dată cu 10 ml alcool 57% și după separarea straturilor, alcoolul se introduce și el în balon. La soluțiile alcoolice reunite, de culoare slab galbenă, se adaugă 5 ml hidroxid de sodiu n/10 și se menține soluția pe baia de apă încălzită la 78—80° pînă la îndepărtarea totală a alcoolului (pînă cînd soluția apoasă începe să facă spumă). Conținutul balonului se trece într-o pilnie de separare, iar balonul se spală cu puțină apă. În felul acesta am obținut o soluție bazică de capsaicină, care se agită cu 30 ml eter pentru a trece capsaicina din soluția apoasă în stratul eteric. După separarea straturilor se îndepărtează stratul apos, iar stratul eteric se filtrează peste sulfat de sodiu anhidru într-o capsulă de porcelan. Soluția bazică apoasă se agită încă o dată cu 20 ml eter, iar stratul eteric se filtrează peste sulfat de sodiu în capsula de porțelan. Soluțiile sterice reunite se evaporază pe baia de apă. Reziduuul se reia de 3 ori cu câte 5 ml alcool 57% care conține 1% clorură de sodiu, iar soluțiile se introduc într-un vas prevăzută cu dop. Deoarece soluția este puțin tulbură, se filtrează înainte de determinare și din filtratul limpede se iau pentru determinare între 1 și 7 ml soluție, în funcție de conținutul în capsaicină.

Pentru reacția de culoare folosim reactivii în ordinea următoare: 1). 0,5 ml soluție acid sulfanilic (0,35 g acid sulfanilic dizolvat în 100 ml acid acetic 4%); 2). 0,5 ml soluție nitrit de sodiu 0,35% (care se prepară zilnic proaspăt). 3). alcool 57% necesar pentru completarea volumului soluției la 7 ml; 4). 1—7 soluție de analizat; 5). 4 ml soluție hidroxid de sodiu n/10; 6). 8 ml alcool 96%.

Se agită amestecul și după 5—10 minute se introduce soluția în fotometrul Pulfrich și se citește rezultatul, folosind un filtru S 53. Ca soluție etalon se folosește un amestec format din reactivii de mai sus cu excepția nitritului de sodiu, înlocuit cu apă distilată.

La stabilirea curbei am folosit capsaicină recristalizată de 4 ori (p.t.63—64°C). Intensitatea colorantului azoic al capsaicinei este atât de stabilă încît nu necesită trasarea curbei, această constatare fiind confirmată de experiențele noastre. Calculul se face cu ajutorul formulei de mai jos. Procedul prezintă avantajul că poate fi întrebunțat și în cazul cînd nu avem la dispoziție capsaicină cristalizată.

$$K = \frac{E \cdot 500}{g \cdot c \cdot m} \text{ unde}$$

K = cantitatea de capsaicină a substanței de analizat (mg/100 g)

E = extincția

g = cantitatea de substanță luată în lucru (g)

c = cantitatea de soluție întrebunțată în reacția de culoare (ml)

m = lățimea interioară a cuvetei folosite (cm).

Tabelul Nr. 2.

Mostra	Cantitatea de capsaicină conținută	Capsaicină adăugată	Capsaicina obținută	Dife- rența
	mg%	mg%	mg%	%
Nr. 1 (iute)	430,5	20	467,0	+3,5
Nr. 2 (iute)	73,6	20	91,2	-2,5

Rezultatele din tabelul nr. 2 reprezintă media a 3—4 determinări. Eroarea de determinare este în fiecare caz sub  $\pm 10\%$ . În cazul adăugării capsaicinei, diferența a fost  $\pm 5\%$ .

3. *Micrometoda cromatografică pe hîrtie* a lui Kovalevski se bazează pe formarea combinației azoice. Am efectuat experiențele după indicațiile autorului. În cazul mostrei nr. 1 cantitatea de capsaicină determinată după metoda Kovalevski este cu 12% mai mică decît în cazul determinării fotometrice.

4. Cu *metoda polarometrică* am obținut aceleași rezultate ca și cu metoda fotocolorimetrică.

5. *Metodele biologice* bazate pe controlul organoleptic se întrebunțează de peste 3 decenii. În completarea lucrării noastre am controlat și metodele biologice. Se cîntăresc 2 g ardei și se adaugă 50 ml alcool 96%, lăsîndu-se în repaus 24 ore. Diluarea s-a făcut cu o soluție de zahăr 10%. Am acceptat numai valorile care la 2 persoane din 3 au prezentat gust iute (mostra nr. 1 a produs senzația de iute la o diluție de 1:80.000 iar mostra nr. 2 la diluția de 1:10.000.

### Concluzii

Eroarea metodei prescrise de STAS, cu modificările aduse de noi (metoda cu metavanadat de amoniu), este cuprinsă între 10 și 12%. Avantajul acestei metode constă în faptul că este ușor accesibilă și este suficientă. Metoda se poate folosi pentru determinări preliminare.

Metoda fotocolorimetrică se poate folosi pentru determinarea cantitativă a capsaicinei din mostre de drog cu un conținut mai mare sau mai redus în capsaicină. Eroarea metodei este sub  $\pm 10\%$ . Diferențele între determinări sînt mai mici de  $\pm 5\%$ . Propunem introducerea metodei pe care o descrie *Spanyar* în ed. VIII-a a Farmacopeei Romîne; deși mai complicată, este totuși mai precisă.

Metoda cromatografică pe hîrtie nu se poate folosi datorită erorilor mari provenite din evaluarea care nu este cantitativă.

Determinarea polarometrică necesită polarograf și atmosferă de azot, astfel încît nu propunem folosirea acestei metode.

Metodele biologice bazate pe controlul organoleptic se pot folosi numai în cazul determinărilor preliminare.

*Sosit la redacție: 2 aprilie 1960.*

*Bibliografia la autori.*

## МЕТОДЫ СЛУЖАЩИЕ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ КАПСАИЦИНА В КРАСНОМ ПЕРЦЕ

Чеде К., П. Хорват М., Надь С.

Авторы в своей работа занимается критической проверкой и изменением современных методов (полярометрический, фотометрический, микро-бумажно-хроматографический и колориметрический) для определения содержания капсаицина.

Для запланированной VIII Румынской Фармакопеи годен фотоколориметрический способ Шпаняра.

Предписанный ГОСТом метод в измененной нами форме годен для ориентировочного исследования.

Органолептический биологический способ в связи с индивидуальным вкусовым ощущением и временным нарушением функции вкусовых сосочек можно употреблять для ориентировочного исследования только в исключительных случаях.

## MÉTHODE POUR LA DÉTERMINATION DU CONTENU EN CAPSAICINE DU POIVRON (FRUCTUS CAPSICI)

C. Csedő, P. Horvátb, Sz. Nagy

Les auteurs présentent une analyse critique des méthodes modernes connues (polarométrique, photométrique, chromatographique sur papier et colorimétrique) pour la détermination de la capsaïcine, en y proposant des modifications. On considère que la plus adéquate méthode pour une détermination précise est celle photocolorimétrique de *Spanyar* que l'on

recommande d'être introduite dans la Pharmacopée Roumaine VIII. L'utilisation du standard d'état, sous la forme modifiée par les auteurs, peut être appliquée avec succès au cours des examens d'orientation.

Dans ceux-ci, la méthode organo-leptique ne peut être utilisée que rarement, vu la désagrégation périodique des corpuscules gustatifs.