

## Kapszaicin antibakteriális hatására vonatkozó vizsgálatok

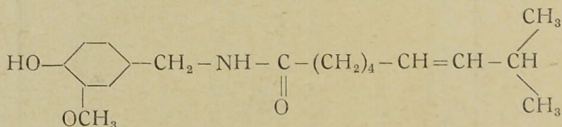
G Á L I L O N A E M M A

Budapest Főváros Vegyészeti és Élelmiszervizsgáló Intézete

Érkezett: 1969. január 6.

A fűszerpaprika fitoncidhatásának vizsgálata során (1,2) felmerült a kérdés, hogy a több szerzőtől leírt és ismételt megfigyelt baktériumgátló hatás (3, 4, 5, 6) kialakításában résztvesz-e a csipős alkatrész, a kapszaicin? Rogacseva szerint (5) az észlelt antibakteriális hatás komplex természetű és részben a kapszaicinra vezethető vissza.

A kapszaicin ismert szerkezeti képlete a következő:



Az utóbbi években több kutatócsoport foglalkozott a paprikából kivont kapszaicin behatóbb tanulmányozásával, elsősorban kémiai összetételének korszerű módszerekkel való felülvizsgálatával.

Kosuge és munkatársai (7) megállapították, hogy a kivont, kristályos kapszaicin (Op 64 C°) papírkromatográfiásan két komponensre választható szét, egy nagyobb mennyiségben jelenlevő telítetlen amidra, a tulajdonképpeni kapszaicinra és a megfelelő telített amidra, a dihidrokapszaicinra (arányuk 7:3). Friedrich és Rangoonwala (8) paprika terméséből kivont saját készítésű kapszaicint választottak szét két komponensre, poliamidrétgen. Bennett és Kirby (9) vizsgálatai szerint a természetes eredetű kapszaicin legalább 5 vanillilamid keveréke, amelyek az oldalláncokban különböznek egymástól. Ezüstnitrátos szilikagél rétegen a keverék összetétele a következőnek adódott: 69% kapszaicin, 22% dihidrokapszaicin, 7% nordihrokapszaicin, 1% homokapszaicin és 1% homodihrokapszaicin.

Fitoncidhatás szempontjából a japán paprikából kivont csipős keveréket Kosuge és Takeuchi (10) vizsgálták meg. Teszt törzsekül különböző mikroorganizmusokat: baktériumokat, élesztőket és penészeket választottak. A készítményt valamennyi teszt törzsrre hatástalannak találták 100 µg/ml koncentrációban, beleértve két baktérium törzsüket, *Lactobacillus casei* és *Bacillus subtilis* is.

Alábbiakban részletezett vizsgálatainkkal magyar paprikából kivont kristályos kapszaicinnak és ezáltal egyúttal magának a fűszerpaprikának baktériumgátló hatásával kapcsolatos kérdések tisztázásához kívántam hozzájárulni.

### Vizsgálati eljárások

A kísérletekhez felhasznált természetes eredetű kristályos kapszaicin a Biogal (Debrecen) gyógyszergyár készítménye volt.

**Baktériumtörzsek:** *Bacillus cereus* (V 1202.1.3.1.1, P 715.1.1 és var. *mycoides* ATCC 9634), *Bacillus subtilis* (P 1484), *Sarcina lutea* (ATCC 9341), *Agrobacterium tumefaciens* (397), *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides* (ATCC 9014), *Staphylococcus aureus* (SG 511), *Escherichia coli* (ATCC 9637), *Serratia marcescens* (56501-3).

Táptalajok az MSZ 3644 szerint készült húseles, illetve húsléalapú tápagar voltak.

**Vizsgálási módszerek:** turbidimetria és agardiffúzió.

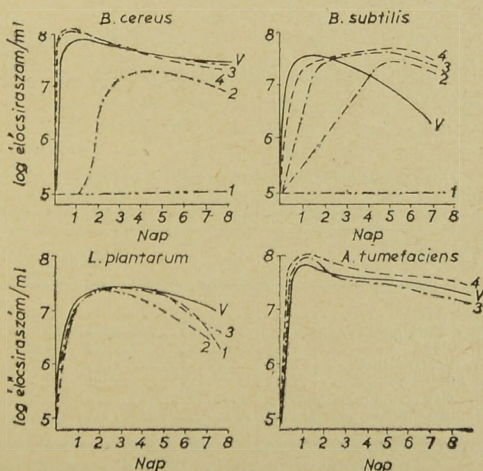
1. A turbidimetriás méréseket Pulfrich fotométeren végeztük Vas-féle kémcsőadapter segítségével. Előkészítés, vizsgálat, értékelés (11) szerint. A kapszaicin különböző koncentrációjú (96%-os) alkoholos oldataiból 0,1 ml-t adagoltunk a beoltott tápoldatok 10 ml-éhez.

2. Az agardiffúziós próbákhoz a – felületileg oltott – tápagarlemezekre szűrőpapírkorongokra szivtatva, vagy lyukakba töltve vittük fel a vizsgálandó oldatokat, majd a lemezeket éjjelen át hűtőszekrényben tartottuk 4 C°-on, hogy a diffúciónak előnyt biztosítsunk a baktériumnövekedéssel szemben. Mindenkor a törzs hőmérsékleti optimumán (27 vagy 37 C°-on) inkubáltunk. A gátlási zónákat kialakulásuk után (általában 16–20 óra) olvastuk le.

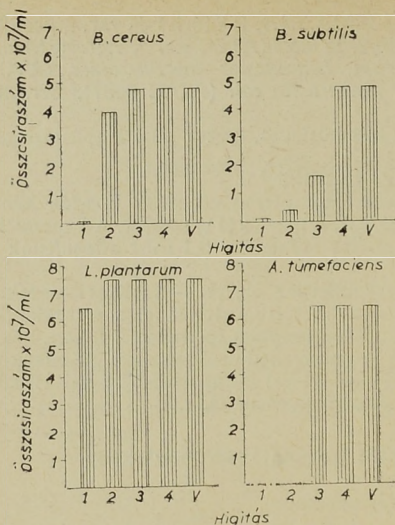
## Vizsgálati eredmények és azokból levonható következtetések

### 1. Turbidimetriás mérések

Előkísérletekkel megállapítottuk, hogy a mérésekre még alkalmas koncentráció felső határa 100 µg/ml kapszaicin, ennél nagyobb töménységben – a hatóanyag rossz vízoldékonysága következtében – már maga az oldat is opalizál. Ennél a hígításnál (1:10 000) a kapszaicin néhány tiszttörzs fejlődését teljes mértékben gátolta (mindhárom *B. cereus* törzsét és a *B. subtilis*-ét), egyeseket (*L. plantarum*, *L. mesenteroides*, *S. lutea*, *A. tumefaciens*) csak kisebb-nagyobb mértékben befolyásolta, lassította, több törzsre pedig hatástalannak bizonyult (*S. aureus*, *E. coli* és *S. marcescens*).



1. ábra. Élőcsíraszám változása különböző kapszaicin-koncentrációjú tápoldatokban (univerzál húseles, pH 7,2). Hígítások: 1. 1:10 000; 2. 1:20 000; 3. 1:50 000; 4. 1:100 000; V. Vak-próba (kapszaicin nélkül). Hiányzó görbék: *L. plantarum*-nál 1. (Gyors üledékképződés, turbiditás nem alakult ki.) *A. tumefaciens*-nél 1. és 2. (Gyors pehelyképződés, nem olvasható le.)



2. ábra. Összes csiraszám különböző kapszaicin-koncentrációjú tápoldatokban (univerzál húsleves, pH 7,2). Hígítások: 1. 1:10 000; 2. 1:20 000; 3. 1:50 000; 4. 1:100 000; V. Vakpróba (kapszaicin nélkül). Hiányzó görbék: A. tumefaciensnél 1. és 2. (Nem szuszpendálható üledék.)

Az első és második csoportból két-két fakultatívan anaerob tesztörzset választottunk (*B. cereus* V 1202.1.3.1.1, *B. subtilis*, *L. plantarum* és *A. tumefaciens*) és a kapszaicin hatását ezekre, a hatóanyag négy koncentrációjában részletesebben tanulmányoztuk. Minden esetben kapszaicin nélküli vakpróbákat is vizsgáltunk.

A növekedési görbék alakját az 1. ábra szemlélteti.

Az oldatok kitisztulása után mikroszkóposan megállapított összes csiraszámok a 2. ábrában vannak feltüntetve.

## 2. Agardiffúziós mérések

A papírkorongos változattal kapott eredmények az 1. táblázatban tekinthetők át.

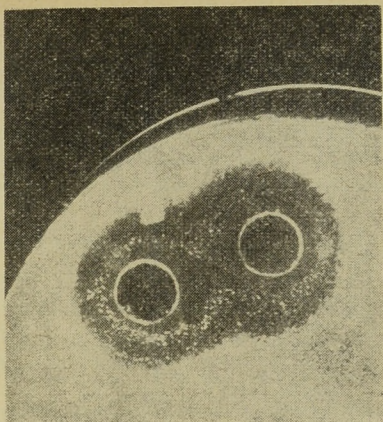
1. táblázat

Kapszaicin baktériumgátló hatása. A hatóanyag különböző koncentrációjú (10 mg/ml, 1 mg/ml és 0,1 mg/ml) etanos oldataiból 0,01 ml szűrőpapírkorongokra (átmérő 9 mm) szivattva és az oldószer elpárolgása után oltott tápagarlemezekre (univerzálagar, pH 7,2) helyezve.

Tesztörzset	Gátlási zóna átmérője, ha a felvett mennyiség		
	100 µg	10 µg	1 µg
<i>B. subtilis</i> .....	23 mm	16 mm	0
<i>B. cereus</i> .....	20 mm	14 mm	0
<i>S. lutea</i> * .....	20 mm	14 mm	0
<i>A. tumefaciens</i> * .....	21 mm	15 mm	0
<i>S. aureus</i> .....	0	0	0
<i>E. coli</i> .....	0	0	0
<i>S. marcescens</i> .....	0	0	0

\* Az aktivitás — ismeretlen okokból — nem mindig reprodukálható.

3. ábra. Kapszaicin dupla gátlási zónája. Oldószer 0,1 n NaOH. Tesztörzs *B. subtilis*. Univerzál tápagar, pH 7,2.



A *B. subtilis* és *B. cereus* tesztörzsek érzékenységét lyuklemez módszerrel is vizsgáltuk, oldószerül 0,1 n NaOH-t alkalmaztunk, amely önmagában még nem adott gátlási zónát az oltott lemezeken. A lyukakba töltött – a papírkorong módszerhez képest tízszeres-térfogatok (0,1 ml) ellenére a legnagyobb hígítású kapszaicin-oldatok (0,1 mg/ml) itt is hatástalannak mutatkoztak.

Néhány esetben a gátlási zónák különös alakúak voltak, „dupla” zónák képződtek, vagyis a baktériummentes övezetet gyűrű alakú baktériumnövekedési övezet szakította meg. (3. ábra)

Elképzelhető, hogy a jelenséget a kapszaicin két (fő) komponensének különböző diffúziósebessége válhatta ki, amelyek a tápagarlemezen mintegy „kromatografálódtak”.

A hatás jellegét *B. cereus* és *B. subtilis* törzseken tanulmányoztuk. Mindkét esetben 1:10 000 hígítású kapszaicin két hétig tartó behatását követő áttolás után még növekedésnek indultak a törzsek, vagyis a leírt körülmények között a kapszaicin bakteriosztatikus – nem pedig baktericid – hatást fejtett ki.

Vizsgálati eredményeinket összefoglalva megállapíthatjuk, hogy magyar paprikából előállított kristályos kapszaicin több baktériumtörzsrre – bakteriosztatikus jellegű – gátló hatást gyakorolt. A hatásra legérzékenyebbek *B. subtilis* és *B. cereus* törzsek mutatkoztak, ezeknél a hatóanyag tápoldatban 100 µg/ml koncentrációban teljes mértékben gátolta a fejlődést, agardiffúziós próbánál pedig 10 µg adott jól mérhető gátlási zónát. A baktériumok egy másik csoportjában (pl. *A. tumefaciens*; *S. lutea*) kisebb mértékű, az agardiffúzió körülményei között nem mindig jól reprodukálható gátlóhatás jelentkezett. *S. aureus*, *E. coli* és *S. marcescens* mindkét kísérleti körülmény között érzéketlenek voltak a kapszaicinhatásra.

Ezek a megállapítások nem egyeznek meg Kosuge és Takeuchi idézett negatív eredményeivel (10). Az eltérésnek többféle oka lehet, pl.:

– A tesztörzsek kapszaicinhatásra különböző érzékenységek voltak.

– A felhasznált kapszaicin készítményeknek eltérő lehetett az összetétele (pl. paprikafajta, talajviszonyok eltérése miatt stb.), azaz más lehetett a komponensek aránya, aminek akkor van jelentősége, ha az egyes komponensek antibakteriális aktivitása is eltérő.

– Lehet, hogy az előállítás módjában voltak különbségek, s a japán kivonási eljárás során készítményük inaktíválódott.

E kérdések tisztázásához további kísérletek szükségesek.

A fűszerpaprika fitoncidhatásával kapcsolatban vizsgálati eredményeink alapján az a következtetés vonható le, hogy a – bizonyos körülmények között – baktériumgátló kapszaicin elvileg résztvehet a paprika – több kutatótól megfigyelt – antibakteriális hatásának kialakításában.

#### I R O D A L O M

- [1] Gál I. E.: ÉVIKE, 14, 219, (1968) és ott idézett korábbi közlemények.
- [2] Gál I. E.: Z. U. L.: 138, 86, 1968.
- [3] Jordanoff, M.: Jahresber. d. Univ. Sofia Vet-Med. Fakultät 3, 55 (1927.)
- [4] Tokin, B. P.: Phytonzide. VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin, 1956. 32. o.
- [5] Rogaceva, A. I.: Fitoncidi i jih ispol'zovanije v. konzervnoj promislennoosztyi Moskva, 1956.
- [6] Karácsony T.: A paprikafajták fitoncidhatásának vizsgálata. Szakdolgozat. Budapest, 1965. Kertészeti és Szőlészeti Főiskola Élelmiszertechnológiai és Mikrobiológiai Tanszék.
- [7] Kosuge, S., Inagaki, Y. és Okumura, H.: Nippon Nogeikagaku Kaishi 35, 923, (1961) és ott idézett korábbi cikkek. Chem. Abstr. 60, 9827 g.
- [8] Friedrich, H. és Rangoonwala, R.: Naturwiss. 52, 514, (1965.)
- [9] Bennett, D. J. és Kirby, G. W.: J. Chem. Soc. (C), 442, (1968.)
- [10] Shokuge, S., Takeuchi, T.: Nippon Shokukin Kogyo Gakkaishi 9, (2), 69, (1962.) – Chem. Abstr. 59, 6724 c.
- [11] Gál I. E. és Vajda Ö.: Nahrung, 12, 587 (1968.); ÉVIKE 14, 3 (1968.)

### ИССЛЕДОВАНИЯ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ КАПСАИЦИНА

И. Э. Гал

Автор установил, что из перца полученный натуральный кристаллический капсаицин – в отличие от литературных данных – оказывает бактериостатическое тормозящее действие на некоторые штаммы из бактерий. Самыми чувствительными штаммами оказывались *B. cereus* и *B. subtilis*. При этих агент в питательной среде в концентрации 100  $\mu\text{g}/\text{мл}$  оказал полное тормозящее действие на их развитие, а в агардиффузионных пробах в количестве 10  $\mu\text{g}$  показал хорошо измеримую зону торможения. В другой группе бактерий (напр. *A. lumentans*, *S. lutea*) степень тормозящего действия являлась меньшей, а в агардиффузионных условиях не всегда воспроизводима соответствующим образом. *S. aureus*, *E. coli* и *S. marcescens* при обоих опытах не были чувствительны на действие капсаицина.

Результаты испытаний свидетельствуют о том, что тормозящее действие капсаицина может играть роль в образовании антибактериального действия пряного перца.

### UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE ANTIKARRIERELLE WIRKSAMKEIT VON CAPSAICIN

I. E. Gál

Die Verfasserin stellte fest, dass kristallisiertes Capsaicin natürlichen Ursprungs – aus Paprika gewonnen – im Widerspruch zu literarischen Angaben, auf mehrere Bakterienstämme eine bakteriostatische Hemmwirkung ausübt. Stämme von *B. cereus* und *B. subtilis* waren gegen die Wirkung besonders empfindlich, bei diesen hemmte der Wirkstoff das Wachstum in einer Konzentration

von 100  $\mu\text{g/ml}$  in der Nährlösung völlig und in der Agardiffusionsprobe liessen 10  $\mu\text{g}$  eine gut messbare Hemmzone entstehen. In einer anderen Gruppe der Bakterien (z. B. *A. tumefaciens*, *S. lutea*) zeigte sich eine geringere Wirkung, die im Agardiffusionstest nicht immer gut reproduzierbar war. *S. aureus*, *E. coli* und *S. marcescens* erwiesen sich unter beiden Versuchsbedingungen als unempfindlich gegen die Wirkung von Capsaicin. Die Versuchsergebnisse unterstützen die Annahme, dass die Hemmwirkung von Capsaicin in der – von mehreren Autoren beschriebenen – antibakteriellen Wirksamkeit von Gewürzpaprika eine Rolle spielt.

## INVESTIGATIONS REFERRING TO THE ANTIBACTERIAL EFFECT OF CAPSAICIN

I. E. Gál

It was proved by the author that – quite in contrast to data of literature – crystalline capsaicin of natural origin produced from paprika shows an inhibiting effect of bacteriostatic nature to several strains of bacteria. Strains of *B. cereus* and *B. subtilis* were found to be the most sensitive to this effect in that in a nutrient solution containing the active substance in a concentration of 100  $\mu\text{g/ml}$ , a complete inhibition was observed while in agar diffusion tests, well measurable inhibition zones appeared on applying 10  $\mu\text{g}$  of the substance. In another group of bacteria (e. g. *A. tumefaciens*, *S. lutea*) a weaker inhibition was observed which could not be always adequately reproduced under the conditions of agar diffusion. Under the experimental conditions of both types of test, *S. aureus*, *E. coli* and *S. marcescens* proved to be quite insensitive to capsaicin. The experimental results support the presumption that the inhibitive effect of capsaicin may play some role in developing the antibacterial action of pulverized paprika (applied as a spice), already described by several authors.

## EXAMINATIONS CONCERNANT L'EFFET ANTIBACTÉRIEL DE LA CAPSAICINE

I. E. Gál

L'auteur a établi que la capsaicine cristallisée d'origine naturelle, obtenue de la paprika, exerce-contrairement aux données de la littérature – un effet inhibiteur de caractère bactériostatique sur plusieurs souches de bactéries. Les plus sensibles à cet effet ont été les souches *B. cereus* et *B. subtilis*, dans leur cas la matière active a complètement inhibé le développement en solution nutritive à une concentration de 100  $\mu\text{g/ml}$ , à l'essai de diffusion sur gélose 10  $\mu\text{g}$  a produit une zone d'inhibition bien mesurable. Dans un autre groupe de bactéries (p. *A. tumefaciens*, *S. lutea*) l'effet inhibiteur était d'un degré moindre, non reproductible en chaque cas dans les circonstances de la diffusion en gélose. *S. aureus*, *E. coli* et *S. marcescens* ont été insensibles à l'effet de la capsaicine dans les deux circonstances de l'expérience. Les résultats de l'examen soutiennent la supposition que l'effet inhibitoire de la capsaicine peut jouer un rôle dans l'effet antibactériel de la paprika d'épice, décrit par plusieurs chercheurs.