

Fűszerpaprika kapszaicin-tartalmának meghatározása rétegekromatográfiás úton

SPANYÁR PÁL és BLAZOVICH MÁRTA

Központi Élelmiszeripari Kutató Intézet, Budapest

Érkezett: 1968. december 22.

A fűszerpaprika kapszaicin-tartalmának meghatározására eddig a fotometriás eljárások mutatkoztak a legalkalmasabbaknak. E módszerek a kapszaicin valamely színreakcióján alapulnak, reagensként North [1] és Hippenmeier [2] foszfomolibdénsavat, Benedek [3, 4] vanádiumoxikloridot, Schulte és munkatársai [5] és Spanyol és munkatársai diazotált [6, 7] szulfanilsavat, Holló és munkatársai [8] dibromkinonklórimidet ajánlanak.

Valamennyi fent említett módszer többé kevésbé alkalmas kapszaicin meghatározására, de közös hibájuk, hogy nem elég érzékenyek, és ezért kb. 10 mg/100 g-nál kisebb kapszaicin-tartalmú fűszerpaprikaőrlemények vizsgálatára nem használhatók. A legkiválóbb fűszerpaprikaőrlemények kapszaicin-tartalma gyakran esik 10 mg/100 g alá, s a 10 mg alatti különbségek is szerepet játszhattak a minősítés szempontjából. Ezért szükségessé vált egy olyan kapszaicin-meghatározási módszer kidolgozása, mellyel lehetőleg rövid idő alatt, ipari laboratóriumokban is hozzáférhető eszközökkel, kisebb (1–10 mg%) kapszaicin-tartalmú minták is elemezhetők.

Valamennyi színreakcióhoz kapcsolt módszer biztonságos alkalmazásának előfeltétele, hogy a kapszaicint a paprikában levő festékanyagoktól és egyéb zavaró anyagoktól megtisztítsuk. Az eddig erre a célra használt oszlopkromatográfiás és extrakciós eljárások igen hosszadalmasak, és sokszor nagy kapszaicin-vesztésekkel járnak. A papírkromatográfiás eljárásoknál (Waldi [9]) a paprikából a kapszaicinnal együtt kiextrahált zsír a foltok elnyúlását és farokképződést eredményez.

Az utóbbi években egyre elterjedtebben használják kapszaicin tisztítására a rétegekromatográfiás elválasztást. (Teichert et al. [10], Heusser [11], Friedrich és Rangoonwala [12]). A szerzők a legkülönbözőbb adszorbenseket, futtatókeverékeket és előhívókat ajánlják, de a kromatográfiás elválasztást általában nem követi mennyiségi meghatározás, csak minőségi kimutatás. Mennyiségi meghatározást rétegekromatográfiás tisztítás után, csak Heusser [11]-nél találunk, módszere azonban csak igen magas kapszaicin-tartalmú (500–1000 mg/100 g) minták elemzésére alkalmas, mert az 1 rétegre felvitt extraktnak legalább 100 µg kapszaicint kell tartalmaznia.

Az ismertetett rétegekromatográfiás eljárások közös hibája, hogy megfelelő érzékenységu előhívó hiányában viszonylag igen sok kapszaicint kell a rétegre felvinni, és ehhez kis kapszaicin-tartalmú mintákból nem lehet elég tömény extraktot készíteni.

Feladatunknak tekintettük egy olyan rétegekromatográfiás eljárás kidolgozását, mely egyrészt 1–10 mg/100 g alatti kapszaicin mennyiség meghatározására alkalmas, másrészt a 10 mg/100 g-nál nagyobb mennyiségeket az eddigi módszereknél gyorsabban, de hasonló pontossággal határozza meg.

E célra kerestünk megfelelő adszorbenst, futtatókeveréket és elég érzékeny előhívó reagenszt.

1. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

Adszorbensek

Az ajánlott adszorbensek közül 3 féle réteganyag került kipróbálásra:

MN poliamid – *DC 11*, víz, dioxán (2:1) futtatóval. Ezen rétegen a kapszaicin feltja előhívás után nem jött elő, valószínű, hogy a frontvonallal együtt futott és az előhívóval való bepermetezés után itt elmosódott csík alakjában vált láthatóvá.

MN Kiesegel N – *HR (UV 254)*, kloroform, metanol, ecetsav (95:5:1) futtatóval. A kapszaicin a paprikában levő festékanyagoktól jól elválasztható, a festék csaknem teljes mennyiségében a frontvonallal fut, a kapszaicin R_f -értéke: 0,75.

Kiesegel G a következő fejezetben felsorolt futtatókeverékekkel. Az előző réteganyaghoz hasonló, jó elválasztást kaptunk.

Mivel a *Kiesegel G* egyszerűbben hozzáférhető, könnyebben beszerezhető, mint az *MN Kiesegel N* – *HR/UV 254*, további kísérleteinkhez 0,25 mm rétegvastagságú *Kiesegel G* rétegeket használtunk.

Futtatókeverékek

Az irodalomban leírt futtatók közül kapszaicin elválasztására a fűszerpaprikában levő festék és egyéb zavaró anyagoktól a következő oldószerkeverékeket próbáltuk ki.

	R_f
1. Benzol: etilacetát = 1:1	0,31
2. Kloroform: ciklohexán: jégacet: metanol = 100:100:8:12	0,36
3. Éterrel telített desztillált víz	—
4. Kloroform: etilalkohol = 94:6	—
5. Kloroform: etilalkohol = 96:4	0,50
6. Kloroform: etilalkohol = 97:3	0,42
7. Kloroform: etilalkohol = 98:2	0,34
8. Kloroform: etilalkohol = 99:1	0,25
9. Ciklohexán: kloroform: ecetsav = 70:20:10	0,06
10. Kétszeres futtatás tiszta kloroformban	0,1
11. Kétszeres futtatás a) tiszta kloroform	
b) kloroform: etilalkohol = 97:3	—
12. Kétszeres futtatás a) tiszta kloroform	
b) kloroform: etilalkohol: 99:1	0,34
13. Kétszeres futtatás a) benzín	
b) kloroform: etilalkohol = 99:1	—

A 3. 4. 11. és 13. futtatóval a kapszaicin feltja vagy a startponton maradt, vagy nem volt élesen megkülönböztethető a festékanyagoktól, így ezek kapszaicin elválasztására nem alkalmasak. A legjobb elválasztást a 8. futtatóval (kloroform: etilalkohol (99:1) kaptuk, így további kísérleteinknél ezt a futtatót alkalmaztuk.

Meghatározás

A fentiekben ismertetett rétegekromatográfiás elválasztás után megkíséreltük a festékanyagoktól megtisztított kapszaicint a rétegről lekaparni, oldószerral kioldani, és fotometriásan meghatározni. A paprikaminták kis kapszaicin-tartalma miatt azonban nem tudtunk olyan nagy mennyiségű extraktot a rétegre felvinni, hogy az futtatás, lekaparás és kioldás után elegendő lett volna bármelyik fotometriás meghatározáshoz.

Ezért olyan előhívót kerestünk, mellyel a réteget bepermetezve, a foltok alakja és színe lehetővé tette az összehasonlítás alapján végzett mennyiségi kiértékelést is.

Előhívóként a következő oldatokat próbáltuk ki:

1. 0,35%-os szulfanilsav oldat és 0,35%-os nátriumnitrit oldat 1:1 arányú elegye, majd ezt követően 0,1n nátriumhidroxid oldat.
Érzékenység 100 μg kapszaicin.
2. 0,5%-os anizsaldehidet, 10% ecetsavat és 5% cc kénsavat tartalmazó metanol.
Érzékenység 100 μg kapszaicin.
3. 0,5%-os alkoholos diazotált benzidin oldat.
Érzékenység: 100 μg kapszaicin.
4. 20% antimontriklorid + 2% ecetsavanhidridet tartalmazó kloroform.
Érzékenység: 4 μg kapszaicin.
5. 0,1 g diazotált szulfanilsav 20 ml 10%-os szódaoldatban oldva.
Érzékenység: 2 μg kapszaicin.
6. 10%-os alkoholos foszformolibdénsav oldat.
Érzékenység: 2 μg kapszaicin.
7. 0,05%-os vizes Rodamin B oldat.
10 μg kapszaicin még ad egy gyengén fluoreszkáló foltot, de a paprikában levő festékanyagok sokkal erősebben fluoreszkálnak, így paprika extraktból ezzel az előhívóval a kapszaicin nem mutatható ki.
8. 15%-os alkoholos ferriklorid oldat és 0,5%-os alkoholos káliumferricianid oldat 1:1 arányú keveréke.
Érzékenység: 0,1 μg .
9. 15%-os vizes ferriklorid és 0,5%-os vizes káliumferricianid oldat 1:1 arányú keveréke.
Érzékenység: 0,1 μg kapszaicin.

Mint a felsorolásból látható, az utóbbi két – berlinikék reakción alapuló – előhívási mód a legérzékenyebb. Ezek közül is a vizes oldatokkal való bepermetezés látszik alkalmasabbnak, mert az alkoholos bepermetezés után sokkal szétfolyóbb, diffúzabb foltokat kaptunk, melyek nehezebben értékelhetők. A reakció kapszaicinre nem specifikus, a reagenssel a paprikában levő festék és egyéb kísérő anyagok hasonlóan a kapszaicinhez, kék színeződést adnak, ezért csak abban az esetben alkalmazható, ha a kromatografálásnál igen jó elválasztást sikerült elérnünk.

A vizsgálati módszerek leírása

Az előkísérletek birtokában két módszert dolgoztunk ki. Az első 10 mg/100 g-nál kisebb, a másik ennél nagyobb kapszaicin tartalmú fűszerpaprika vizsgálatára alkalmas. Az első érzékenyebb, a második lényegesen rövidebb, mint az eddig használt eljárások.

10 mg%-nál nagyobb kapszaicintartalmú fűszerpaprika minták kapszaicin tartalmának meghatározása.

Kémszerek:

57%-os etilalkohol
éter p.a. peroxidmentes (2%-os ferroszulfáttal peroxidmentesítve)
kloroform p.a.
0,01 mg/ml-es éteres kapszaicin oldat*
200 × 200 mm-es 0,25 mm rétegvastagságú, 105 °C-on 30 percig aktivált Kieselgel G rétegek (vasnyomoktól mentesek)
0,5%-os vizes káliumferricianid oldat
15%-os vizes ferriklorid oldat
(a két utóbbi oldatot közvetlenül használat előtt 1:1 arányban elegyítjük, és az így kapott oldatot használjuk előhívóként.)

A meghatározás menete:

50 ml-es üvegdugós rázóhengerbe bemérünk 4 g fűszerpaprikát, 3 ml 57%-os etilalkohollal megnedvesítjük, majd 2 × 30 ml peroxidmentes éterrel 10–10 percig kirázzuk. Mindkét kirázás után 5–5 percig üleptítjük az elegyet, és szűrőpapíron gömbömbikba szűrjük. Vízleghőszívattyúval, 30–40 °C-os vízfürdőben kb. 20 ml-re bepároljuk, és éterrel 25 ml-es mérőlombikba mossuk. Ezután – a kapszaicintartalomtól függően – a rétegekromatografáláshoz megfelelő töménységre hígítjuk az oldatot, úgy hogy az így nyert törzsoldat kapszaicintartalma 5 és 50 µg/ml között legyen.

A különböző kapszaicin-tartalmú mintákból az 1. táblázatban közölt hígításokkal kaphatunk kromatografálásra alkalmas törzsoldatot.

1. táblázat

Kromatografálásra alkalmas törzsoldat készítése a különböző kapszaicin-tartalmú mintákból

A minta kapszaicin-tartalma mg %	Bemérés g/25 ml	Hígítás
10– 30	4	—
30– 60	4	2x
60– 100	4	6x
100– 150	4	10x
150– 200	4	15x

A megfelelően előkészített Kieselgel G rétegeken egymástól egyenlő távolságra 6 startpontot jelölünk ki, melyekre mikropipettával, (0,1 ml térfogatú, 100-as beosztású) a következő anyagmennyiségeket visszük fel:

1. 0,02 ml 0,01 mg/ml kapszaicin tartalmú összehasonlító oldat.
2. 0,02 ml éteres paprika törzsoldat
3. 0,04 ml összehasonlító oldat
4. 0,04 ml paprika törzsoldat
5. 0,06 ml összehasonlító oldat
6. 0,06 ml paprika törzsoldat.

* A kapszaicin oldat eltarthatósága hűtőszekrényben mintegy 14 nap

A lapot kloroform: etilalkohol (99:1) futtatókeveréket tartalmazó kádba állítjuk, és addig futtatjuk, amíg az oldószer-szint a réteg felső szélét eléri. A lapot ezután kiesszük, megvárjuk, amíg az oldószer elpárolog, és 15%-os ferriklorid + 0,5%-os káliumferriicianid 1:1 arányú elegyével egyenletesen bepermetezzük. (Nagyon fontos, hogy a bepermetezés egyenletes legyen, mert különben a foltok színe a háttér színének egyenletlensége miatt nem lesz arányos a rajtuk levő kapszaicin mennyiségével.)

A mintából és a standard oldatból kapott foltok erősségének és nagyságának összehasonlítása útján meghatározzuk a mintában levő kapszaicin mennyiségét. Ha a foltok nagysága és erőssége nem összemérhető, kisebb vagy nagyobb mennyiségek felvitelével megismételjük a meghatározást.

Fontos, hogy az elbírálást a réteg bepermetezése után minél hamarabb (1–2 percen belül) elvégezzük, mert a kapszaicin környezetében olyan zavaró foltok jöhetnek elő, melyek a pontos kiértékelést lehetetlenné teszik.

10 mg%-nál kisebb kapszaicintartalmú fűszerpaprika minták kapszaicin tartalmának meghatározása.

Kémszerek:

Az előző módszernél felsorolt anyagokon kívül a következőkre van szükség extrakciós benzín (Fp. 60–100 °C) konyhasó
0,1 n nátriumhidroxid oldat.

A meghatározás menete:

50 ml-es üvegdugós rázóhengerbe bemérünk 4 g fűszerpaprikát, 3 ml 57%-os etilalkohollal megnedvesítjük, majd 2×30 ml peroxidmentes éterrel 10–10 percig kirázzuk. Mindkét kirázás után 5–5 percig ülepítjük az oldatot, és szűrőpapíron gömbloblikba szűrjük. Vízlégszivattyúval, 30–40 °C-os vízfürdőben az étert teljesen elpárologjuk, a maradékot 4×5 ml 57%-os alkohollal 100 ml-es választótölcsérbe mossuk. A gömbloblik falára tapadt festéket 30 ml extrakciós benzinnel szintén a választótölcsérbe visszük.

Az alkoholos – benzines elegyhez kevés konyhasót adunk, és 5 percig rázzuk. 10 perc állás után, amikor az elegy szétvált, az alsó, alkoholos, kapszaicint tartalmazó oldatot 100 ml-es frakcionáló lombikba engedjük. A benzines részt még egyszer 10 ml 57%-os alkohollal kirázzuk és 10 perc állás után az alsó réteget ugyancsak a frakcionáló lombikba engedjük.

Az egyesített, sárgás színű alkoholos oldatot 5 ml 0,1 n nátriumhidroxid oldat hozzáadása után 75–80 °C-os vízfürdőben, nitrogén áramban alkoholmentesre desztilláljuk. Ha a vizes-lúgos kapszaicin oldat erősen habzani kezd, a desztillálást abbahagyjuk, az oldatot nitrogén áramban lehűtjük, és néhány ml desztillált vízzel választótölcsérbe visszük. Az így nyert lúgos kapszaicin oldatot 30 ml, majd 20 ml éterrel, 10–10 percig kirázzuk, az éteres oldatokat vízmentes nátriumsulfáton keresztül gömbloblikba szűrjük, és az étert vízlégszivattyúval elpárologjuk. A maradékot éterben felvesszük, és 25 ml-es mérőlombikban jelig töltjük. Ezt az oldatot használjuk a rétegekromatográfiás meghatározáshoz. A meghatározást a továbbiakban az előzőekben leírtak szerint végezzük.

Fűszerpaprikához hozzáadott — 10 mg %-nál kisebb mennyiségű — kapszaicin meghatározása

Hozzáadott kapszaicin mg %	Visszakapott kapszaicin mg %	Átlagtól való eltérés mg %	s mg %	t
1,0	0,7 1,2 1,0 1,1 1,0	0,3 0,2 0,0 0,1 0,0	0,187	0,000
2,0	2,0 2,4 2,3 2,0 2,0	0,1 0,3 0,2 0,1 0,1	0,200	1,120
3,0	3,0 2,5 2,6 2,7 2,5	0,3 0,2 0,1 0,0 0,2	0,212	3,169*
4,0	3,9 4,2 4,2 4,6 4,7	0,5 0,1 0,1 0,3 0,4	0,114	5,890**
5,0	4,6 5,0 5,6 5,2 5,3	0,5 0,1 0,5 0,1 0,2	0,300	0,746
6,0	6,0 5,5 5,9 5,7 5,8	0,2 0,3 0,1 0,1 0,0	0,200	2,240
7,0	6,3 7,9 7,1 7,5 6,9	0,8 0,8 0,0 0,4 0,2	0,192	1,166
8,0	8,2 8,5 8,2 8,1 8,2	0,0 0,3 0,0 0,1 0,0	0,173	2,590
9,0	8,8 8,6 8,9 9,1 9,3	0,1 0,3 0,0 0,2 0,4	0,0895	0,250
10,0	10,5 10,0 9,3 10,1 9,9	0,5 0,0 0,7 0,1 0,1	0,138	0,000

* $t_{95} < t_{\text{szám}} < t_{99}$ ** $t_{99} < t_{\text{szám}} < t_{99,9}$

2. EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

A módszer felhasználásával számos kísérletet végeztünk annak eldöntésére, hogy az eljárás a gyakorlatban miként válik be.

A 10 mg%-nál nagyobb kapszaicin-tartalmú minták elemzése mintegy két és fél órát vesz igénybe, mivel azonban a futtatás ideje csak várakozási idő, egy nap alatt – részben párhuzamosan – kb. 6–8 minta elemezhető.

A 10 mg%-nál kisebb kapszaicin-tartalmú minták elemzése – a sok elválasztó művelet következtében – sokkal időigényesebb, egy minta kb. 4–4 és fél óra alatt elemezhető. Egy nap alatt 3–4 vizsgálat végezhető el.

Fontos volt annak az eldöntése, hogy a viszonylag sok műveletből álló előkészítés – főleg a kis kapszaicin-tartalmú mintáknál – nem hamisítja-e meg az eredményeket. Feltételezhető volt, hogy az előkészítő műveletek során az anyag egy része elbomlik, vagy a kapszaicin kivonása nem történik meg tökéletesen. Ennek eldöntésére kapszaicint nem tartalmazó fűszerpaprikához különböző mennyiségű kapszaicint adtunk, és a mintákat rétegekromatográfiásan elemeztük. Az eredményeket a 2. táblázatban foglaltuk össze.

3. táblázat

10 mg %-nál kisebb kapszaicin-tartalmú fűszerpaprika minták kapszaicin tartalmának meghatározása

Minta sz.	Kapszaicin tartalom mg %	Átlagtól való eltérés mg %	s mg %
1.	10,7	0,7	0,749
	9,4	0,6	
	10,6	0,6	
	10,2	0,2	
	9,0	0,1	
2.	11,7	0,0	0,300
	11,2	0,5	
	11,8	0,1	
	11,8	0,1	
	12,0	0,3	
3.	2,0	0,3	0,282
	1,3	0,4	
	1,8	0,1	
	1,5	0,2	
	1,7	0,0	
4.	1,4	0,1	0,282
	1,1	0,2	
	1,2	0,1	
	1,8	0,5	
	1,2	0,1	
5.	2,3	0,2	0,244
	2,1	0,0	
	2,2	0,1	
	1,7	0,4	
	2,3	0,2	
6.	5,6	0,3	0,793
	6,5	0,6	
	5,4	0,5	
	5,0	0,9	
	6,9	1,0	

Annak igazolására, hogy a hozzáadott kapszaicinmennyiségek a visszakapott értékektől szignifikánsan nem különböznek, a különböző hozzáadott mennyiségekre külön-külön *t*-próbát számítottunk. A számítás eredményeit a 2. táblázatban közöljük. Az eredményekből látható, hogy az esetek nagy részében még 95%-os valószínűségi szinten sincs szignifikáns különbség a hozzáadott és visszakapott mennyiségek között.

Megvizsgáltuk azt is, hogy a különböző hozzáadott mennyiségek szórásai egy eloszlásból származónak tekinthetők-e. A χ^2 próba eredménye azt mutatta, hogy a szórások 90%-os valószínűségi szinten is egy eloszlásból származónak tekintethetők, tehát közös szórással számolhatunk. Így módon a megadott koncentrációtartományban (1–10 mg% kapszaicin) a módszer szórása $s = 0,324$ mg%.

A fenti megállapítás és a megadott szórás-érték azonban módosul, ha nem egy paprikamintához hozzáadott, különböző mennyiségű kapszaicin meghatározásáról, hanem különböző paprikaminták – e koncentrációtartományba eső – kapszaicintartalmának meghatározásáról van szó (3. táblázat).

A szórások ebben az esetben 95%-os valószínűségi szinten tekinthetők egy eloszlásból származónak, a módszer szórása pedig 0,499 mg%. A különbség valószínűleg abból adódik, hogy a különböző paprikaminták festéktartalma mennyiségben és összetételben változó, ez pedig erősen befolyásolja a rétegen való szétválasztást, a foltok alakját és ezzel párhuzamosan azok kiértékelhetőségét. A különböző paprikafajták viselkedésében már az előkészítő műveletek során is lényeges különbségeket tapasztaltunk (pl. emulzióképződésben, habzásban stb.).

A 10 mg%-nál nagyobb kapszaicin-tartalmú minták vizsgálatára szolgáló módszer jellemzésére szintén elvégeztük a fenti számításokat. Kapszaicint nem tartalmazó fűszerpaprikához 20 és 50 mg% kapszaicint adtunk, és módszerünkkel mértük a visszakapott kapszaicin mennyiségét. Az eredményeket a 4. táblázatban foglaltuk össze.

4. táblázat

Fűszerpaprikához hozzáadott 10 mg%-nál nagyobb mennyiségű kapszaicin meghatározása

Hozzáadott kapszaicin mg %	Visszakapott kapszaicin mg %	Átlagtól való eltérés mg %	s mg %	t
20	18,6	1,36	1,239	0,102
	20,9	0,94		
	20,9	0,94		
	20,9	0,94		
	20,9	0,94		
	20,9	0,94		
	18,8	1,16		
	17,9	2,06		
	18,9	1,06		
	20,9	0,94		
50	46,2	2,63	1,770	2,09
	49,7	0,87		
	49,7	0,87		
	49,7	0,87		
	45,9	2,93		
	49,9	1,07		
	49,9	1,07		
	50,5	1,67		
	50,0	1,17		
	46,8	2,03		

$$t_{95} (f=9) = 2,262$$

F-próbával igazoltuk, hogy a két szórás között szignifikáns különbség nincs, a módszer szórása: 1,498 mg%. A *t*-próbával bizonyítottuk, hogy a hozzáadott és visszakapott értékek között 95%-os valószínűségi szinten nincs szignifikáns különbség.

A továbbiakban néhány paprikamintát vizsgáltunk meg e rövidített módszerünkkel, és az eredményeket az 5. táblázatban foglaltuk össze. A χ^2 próba azt mutatta, hogy a kapott szórások egy eloszlásból származnak ($\chi^2_{90} > \chi^2_{\text{számított}}$), így egyetlen szórással számolhatunk, mely számításaink szerint 1,060 mg%.

5. táblázat

10 mg %-nál nagyobb kapszaicin-tartalmú fűszerpaprika minták kapszaicin-tartalmának meghatározása

Minta sz.	Kapszaicin tartalom mg %	Átlagtól való eltérés mg %	s mg %
1	19,5	0,32	0,408
	19,0	0,18	
	18,7	0,48	
	19,0	0,18	
	19,7	0,52	
2	30,2	0,50	1,079
	30,3	0,40	
	31,2	0,50	
	29,5	1,20	
	32,3	1,60	
3	34,4	0,36	1,023
	33,3	1,46	
	35,1	0,34	
	36,1	1,34	
	34,9	0,14	
4	46,3	0,50	1,456
	43,5	2,30	
	46,0	0,20	
	47,5	1,70	
	45,7	0,15	

6. táblázat

Fűszerpaprika minták kapszaicin tartalmának meghatározása rétegekromatográfias és fotometriás módszerrel

Minta	Kapszaicin-tartalom rétegekromatográfias módszerrel mg %	Kapszaicin-tartalom fotometriás módszerrel mg %	Átlagok közötti eltérés mg %
1	160,0	164,0	4,0
2	62,6	69,4	6,8
3	19,2	21,9	2,7***
4	30,7	28,9	1,8
5	34,8	37,5	2,7
6	45,8	44,7	1,1
7	206,2	194,0	12,2
8	180,6	179,5	1,1

*** $t_{99,9} < t_{\text{szám}}$

Fontosnak tartottuk, hogy az eddig széles körben használt fotometriás módszerrel (Spanyár és mtsai [7]) kapott eredmények mennyire egyeztethetők össze az általunk kidolgozott rétegekromatográfiás módszer eredményeivel. Ezt természetesen csak 10 mg%-nál nagyobb kapszaicintartalmú mintákon tudtuk ellenőrizni, mert a fotometriás módszer kisebb kapszaicin-tartalom meghatározására nem alkalmas. Az összehasonlítást így a gyorsított rétegekromatográfiás módszer és a fotometriás módszer között végeztük el. Az eredményeket a 6. táblázatban foglaltuk össze.

A feltüntetett eredmények 5 különböző bemérés átlagértékei. Mint a táblázat adataiból látható, egy esettől eltekintve, a két módszerrel kapott értékek között 95%-os valószínűségi szinten nem volt szignifikáns különbség.

A módszerek szórása:

10 mg%-nál nagyobb kapszaicin mennyiségek meghatározásánál: 1,060 mg%.

10 mg%-nál kisebb kapszaicin mennyiségek meghatározásánál: 0,499 mg%.

A számításokat Nonn Ferencné matematikus útmutatásai alapján végeztük, a kísérleteknél Polyák Ottóné működött közre.

IRODALOM

- [1] North, H.: *Anal. Chem.* 21, 934, 1949.
- [2] Hippenmeier, F.: *Zur Gehaltbestimmung von capsaicinhaltigen Arzneidrogen und Arzneidrogen-Präparaten.* Zürich. ? 1949.
- [3] Benedek, L.: *Élelmészeti Ipar* 7, 123, 1953.
- [4] Benedek, L.: *Kísérletügyi Közlemények* 3, 33, 1959.
- [5] Schulte, K. E. és Krüger, M.: *Z. Anal. Chem.* 147, 266, 1955.
- [6] Spanyol, P., Kevei, J. és Kiszél, J.: *Élelmészeti ipar* 10., 52, 1956.
- [7] Spanyol, P., Kevei, J. és Kiszél, J.: *Konzerv- és Paprikaipar* 7., 312, 1959.
- [8] Holló, J., Gál, I. és Sütő, J.: *Fette, Seifen, Anstrichmittel* 59, 1048, 1957.
- [9] Waldi, D.: *Chromatographie.* E. Merck. A. G. Darmstadt 66. 1958.
- [10] Teichert, K., Mutschler, E. és Rochelmeyer, H.: *Z. anal. Chem.* 187, 325, 1961.
- [11] Heusser, D.: *Planta Med.* 12, 237, 1964.
- [12] Friedrich, H. és Rangoonwala, R.: *Naturwissenschaften* 52, 514, 1965.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ КАПСАИЦИНА В ПРЯННОМ ПЕРЦЕ ПОМОЩЬЮ СЛОИСТОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

П. Шпаныр, и М. Блазович,

Авторы разработали два метода для определения содержания капсаицина в пряном перце помощью слоистой хроматографии. Первый метод подходящий для анализа образцов с содержанием выше 10 мг %, а второй метод для образцов ниже 10% мг капсаицина. Методы основываются на одинаковом принципе, расхождения имеются только в подготовительных операциях.

В первом случае подготовка состоит в том, что из помола пряного перца изготовим эфирный экстракт и разбавим его до концентрации соответствующей определению помощью слоистой хроматографии.

Во втором случае, после выпаривания из эфирного экстракта и разбавления в 57%-ном спирте произведем экстрагирование одной части красящих веществ бензином, из раствора содержащего капсаицин удаляем спирт дистиляцией, из спиртового остатка капсаицин вытряхивается эфиром, эфирный раствор выпаривается и устанавливается на соответствующий объем.

Полученные растворы нанесем на слой Кизелгел Г, потом произведем наводку в смеси: хлороформ-этиловый спирт в соотношении 99 : 1. После

обрызгивания реагентом хлорида железа — железосинеродистого калия капсаицин появится в виде синих пятен. Определение проводим одновременно с образцами наведенных пятен с известным количеством капсаицина.

BESTIMMUNG DES CAPSAICINGEHALTES VON GEWÜRZPAPRIKA VERMITTELS DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAPHIE

P. Spanyol und M. Blazovich

Die Verfasser arbeiteten zwei dünn-schichtchromatographische Methoden zur Bestimmung des Capsaicingehaltes von Gewürzpaprika aus. Die erste Methode eignet sich zur Analyse von Proben mit einem Capsaicingehalt über 10 mg%, die zweite für diejenigen mit einem Capsaicingehalt unter 10 mg %. Das Prinzip beider Verfahren ist identisch, sie unterscheiden sich nur in den vorbereitenden Operationen.

Im ersten Falle besteht die Vorbereitung darin, dass man aus dem Gewürzpaprika-Mahlprodukt einen Ätherextrakt bereitet und denselben zur dünn-schichtchromatographischen Bestimmung in entsprechendem Masse verdünnt. Im zweiten Falle entfernt man aus dem Ätherextrakt nach Einengung und Auflösung in 57%-igen Alkohol durch Ausschütteln mit Benzin einen grossen Teil der Farbstoffe, entfernt aus der Capsaicin enthaltenden Lösung den Alkohol mittels Destillation, schüttelt den Rückstand mit Äther aus, engt die ätherische Lösung ein und nimmt den Rückstand in einem entsprechenden Volumen auf. Die so erhaltene Lösung wird zur dünn-schichtchromatographischen Bestimmung verwendet.

Die Lösung tragen wir auf eine Kieselgel G-Schicht auf und entwickeln in einem Gemisch von Chloroform-Äthylalkohol 99 : 1. Nach Besprühung mit einem Ferrichlorid-Kaliumferricyanid Reagens wird das Capsaicin als blauer Fleck sichtbar. Die Bestimmung erfolgt durch Vergleichung mit- ausbekannte Mengen Capsaicin enthaltender und mit der Probe gleichzeitig entwickelten Capsaicin-lösung entstandenen-blauen Flecken.

DETERMINATION OF THE CONTENTS OF CAPSAICIN IN GROUND PAPRIKA BY THIN LAYER CHROMATOGRAPHY

P. Spanyol and M. Blazovich

Two different thin layer chromatographic methods were evolved by the authors for the determination of the contents of capsaicin in ground paprika. One of the methods is suitable for the analysis of samples containing capsaicin amounts over 10 mg% while the other serves for the determination of capsaicin contents below 10 mg%. Both techniques are based on the same principle, differing from each other only in the preparatory operations.

In the first method, preparation consists in extracting ground paprika with ether, and in diluting this ethereal extract to a concentration suitable for thin layer chromatographic determination.

In the other method, in turn, the major part of pigments are removed from the ethereal extract by evaporation, followed by resolution in 57% ethanol, and shaking with gasoline. On eliminating ethanol from the capsaicin-containing solution by distillation, the residue is extracted by shaking with ether, the ethereal solution evaporated and redissolved to an adequate volume. The resulting solution serves for the layer chromatographic determination of low capsaicin contents.

In the layer chromatographic determination, the solution is transferred on a Kieselgel G layer, allowed to run in a 99 : 1 mixture of chloroform ethanol and sprayed with an iron(III) trichloride-potassium hexacyanoferrate(III) reagent. Capsaicin appears as blue spots. For the determination, the spots are compared with spots obtained on using capsaicin solutions of known capsaicin contents.

DOSAGE DE LA TENEUR EN CAPSAÏCINE DU POIVRE ROUGE PAR CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHES MINCES

P. Spanyol et M. Blazovich

Les auteurs ont développé deux méthodes de chromatographie sur couche mince pour le dosage de la teneur en capsaïcine du poivre rouge. La première méthode se prête à l'analyse des échantillons à une teneur en capsaïcine au-dessus de 10 mg p.c., la seconde à l'analyse de ceux qui contiennent moins de 10 mg p.c. de capsaïcine. Le principe des procédés est le même, ils ne diffèrent que dans les opérations préalables.

Dans le premier cas le traitement préalable consiste en ce qu'on prépare de la mouture du poivre un extrait éthéré, qu'on dilue ensuite à une concentration appropriée pour le dosage par chromatographie en couche mince.

Dans le deuxième cas on élimine de l'extrait éthéré, après concentration par évaporation et dissolution dans de l'alcool à 57 p.c., la plupart des colorants par secouement avec de la benzine, élimine ensuite de la solution contenant la capsaïcine l'alcool par distillation, secoue le résidu avec de l'éther, concentre la solution éthérée par évaporation et la dilue dans une mesure appropriée. La solution ainsi obtenue sera employée pour le dosage chromatographique en couche mince.

On dépose la solution sur une couche de Kieselgel G. L'élution se réalise dans le solvant chloroforme — alcool éthylique (99 : 1). Après pulvérisation du réactif chlorure ferrique — ferricyanide de potassium la capsaïcine devient visible sous forme de taches bleues. Le dosage s'effectue par comparaison avec les taches obtenues à partir d'une solution à teneur connue de capsaïcine, élues sur la même plaque que l'échantillon.

MAIER, H., G., DIERMAIR, W. és GANSMANN, J.:

A kávé barnaszínű pörkölési anyagainak elkülönítése és jellemzése

(Zur Isolierung und Charakterisierung der braunen Kaffeeröststoffe.)

ZUL 137., 282, 1968.

A pörkölt kávé főzetének barnaszínű anyagainak gélzúréssel és nylonporos szorpció segítségével választották szét. Így az élettanilag hatásos alkotórészeket a főzetből szét tudták választani. Eluálószerként desztillált vizet, étert és 1%-os ammóniaoldatot használtak.

Esetleg használható kloroformmal telített desztillált víz is. Eljárásukkal nyolcféle barnaszínű frakciót kaptak. Egy frakció tartalmazta a lipoidokat, őt a kismolekula súlyú anyagokat, amelyben a klorogénsavat, a trigonellint és az 5-hidroxi-metil-furfurolt meghatározták. Két frakció tartalmazta a Maillard-reakció termékeit.

A kiértékelést UV-spektrofotometrián végezték. Vizsgálataik kiterjedtek a szénhidrátokra és a fehérjékre is. A vizsgált babkávék extrakttartalma 24% körüli, koffeintartalma 1% körüli, klorogénsavtartalma 4% körüli érték volt.

Bátyai J. (Szeged)