

STANOVENIE KAPSAICÍNU (I) REAKCIA KAPSAICÍNU S KYSELINOU *p*-DIAZOBENZÉNSULFÓNOVOU

VLADIMÍR ZITKO

Oddelenie glycidov a biochémie Chemického ústavu Slovenskej akadémie vied
v Bratislave

V práci sa zaoberáme podmienkami kopulácie kapsaicínu s kyselinou *p*-diazobenzénsulfónovou. Na základe zistených optimálnych podmienok sme vypracovali postup stanovenia v čistých systémoch.

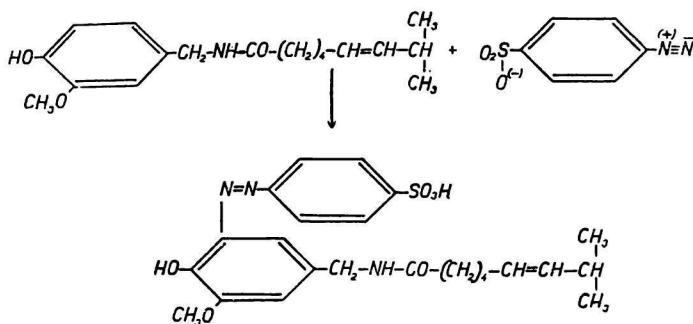
Kapsaicín, účinná látka ostrej papriky, je *4-oxy-3-metoxybenzylamid-8-metylnon(6)-en-1 karbónovej kyseliny*. Dáva rad charakteristických reakcií. Micko [1] opisuje reakciu kapsaicínu s chloridom platičitým, keď po niekoľkých hodinách sa objaví charakteristická vôňa vanilínu, a reakciu s chloridom železitým za vzniku zelenomodrého sfarbenia. Morbitz [2] pozoroval vznik fialového sfarbenia, ktoré kapsaicín dáva v prostredí koncentrovanej kyseliny sírovej so sacharózou, a tvorbu zrazeniny s chloridom platičitým i jodoortutnatom draselným v prostredí alkoholu okysleného kyselinou soľnou.

Podľa Wasického a Kleina [3] pri reakcii kapsaicínu s paraformaldehydom v prostredí koncentrovanej kyseliny sírovej vzniká fialové sfarbenie. Wales a Palkin [4] kopulovali kapsaicín s nitrobenzéndiazóniumchloridom. Fodor [5] zistil, že kapsaicín redukuje roztok dusičnanu strieborného a v acetónovom prostredí dáva zelené sfarbenie s chloridom železitým rovnako ako s peroxydom olova a s koncentrovanou kyselinou octovou. Na kvantitatívne stanovenie použil reakciu s oxychloridom vanadičným. Reakcia prebieha v chloroforme, tetrachlórmetáne, éteri a v acetóne za vzniku intenzívneho modrého sfarbenia, pričom možno stanoviť ešte 16,7 γ kapsaicínu v 1 ml. Metóda prešla mnohými zmenami. Benedek [6] používa namiesto oxychloridu vanadičného metavanadičnan amónny a kyselinu soľnú. V tejto úprave možno stanoviť kapsaicín ešte v koncentrácii 4,5 γ /ml. North [7] vypracoval metódu na kvantitatívne stanovenie kapsaicínu reakciou s kyselinou fosfomolybdénfosfovolfrámovou, pri ktorej vzniká modré sfarbenie. Podobný postup volil aj Hippenmeier [8]. Ako činidlo použil však len kyselinu fosfomolybdénovú.

V poslednom čase Schulte a Krüger [10] a nezávisle Spanyar, Kevei a Kizsel [9] vypracovali metódy založené na kopulácii kapsaicínu s kyselinou *p*-diazobenzénsulfónovou. Priebeh reakcie je schematicky znázornený na str. 591.

Ako prvý experimentálne ukázal Spanyar a spolupracovníci [9], stanovenie s metavanadičnanom amónnym i s kyselinou fosfomolybdénovou, resp. fosfomolybdénfosfovolfrámovou nedáva vždy správne výsledky. Tieto činidlá sú málo špecifické a reagujú aj s radom iných, mierne redukujúcich látok,

napr. s kyselinou L-askorbovou. Kopulačná reakcia s kyselinou *p*-diazobenzénsulfónovou je špecifickejšia. Postup stanovenia, ktorý vypracoval Spanyol a spolupracovníci, je však zdĺhavý a môže byť zdrojom mnohých chýb. Aby mohla byť vypracovaná zjednodušená metóda, bolo potrebné zistiť optimálne podmienky reakcie kapsaicínu s kyselinou *p*-diazobenzénsulfónovou.



Experimentálna časť

1. *Kryštalický kapsaicín* sme získali metódou podľa Gála [11]. Prekryštalovali sme ho trikrát z petroléru. Vzniknutý produkt má bod topenia 65°C . Na základe údajov Newmanových [12] možno túto hodnotu pokladať za dostatočné kritérium čistoty preparátu.

2. *Príprava kyseliny p-diazobenzénsulfónovej*. Uvedenú kyselinu sme pripravili podľa predpisu Schulte—Krügerovho [10], ktorý sme sčasti pozmenili. 1 g kyseliny sulfanilovej sa rozpustí v 5 ml 1 N líhu sodného, pridajú sa 4 ml 10 % roztoku dusitanu sodného a zmes sa pomaly prikvapáva do 2,4 ml kyseliny soľnej chladenej ľadom. Nerozpustná kyselina *p*-diazobenzénsulfónová sa odsaje, premyje 100 ml ľadovej vody, 25 ml metanolu a 25 ml éteru.

Na stanovenie kapsaicínu sme používali roztok kyseliny *p*-diazobenzénsulfónovej v 0,1 N kyseline soľnej (asi 0,08 g/l). Roztok musí dávať negatívnu reakciu s káliumjodid-škrobovým papierikom. Roztok činidla sme štandardizovali týmto spôsobom: K 10 ml tlmivého roztoku podľa Thieleho pre pH 11 sme pridali 10 ml 0,001 M roztoku fenolu, 5 ml 0,1 N líhu sodného a 5 ml činidla. Po doplnení destilovanou vodou na 100 ml sme merali extinkciu na Pulfrichovom fotometri za použitia filtrov *S 42*, *S 45*, *S 47* a *S 50* a na Hilgerovom spektrofotometri. Získané krivky sú znázornené na diagrame 1. Tvar kriviek je kritériom čistoty preparátu. Ak bol preparát správne pripravený, modul extinkcie, stanovený s filtrom *S 47*, je asi 0,350. Na priebeh reakcie nemá vplyv, ak sa táto hodnota pohybuje v rozmedzí 0,333—0,410. Závislosť modulu extinkcie od ml pridaného činidla je v sledovanom rozmedzí lineárna, takže možno vypočítať počet ml činidla, dávajúci sfarbenie s modulom extinkcie 0,350. Tento sa môže pohybovať od 4 do 7. V každom prípade je nevyhnutné pridávať rovnaký počet ml 0,1 N líhu sodného.

Roztoky činidla uchováваме v ľadničke pri teplote 0 až $+5^\circ\text{C}$. Za týchto podmienok sú stále dlhú dobu. Pre stanovenie pipetujeme roztoky o teplote $+5^\circ\text{C}$.

3. Používali sme Sörensenove tlmivé roztoky: glycín—hydroxyd sodný, borát—kyselina soľná, borát—hydroxyd sodný [13] a Thieleho borátový tlmivý roztok pre pH = 11 (970 ml 0,05 M- Na_2CO_3 a 30 ml 0,05 M boraxu) [14].

4. *Extinkciu* sme merali Pulfrichovým fotometrom. Pri stanovení kapsaicínu sme používali filter *S 50*. Hodnoty uvedené v tabuľkách sú priemerom piatich odčítaní. Stredná chyba priemeru sa pohybuje od 0,001 do 0,003.

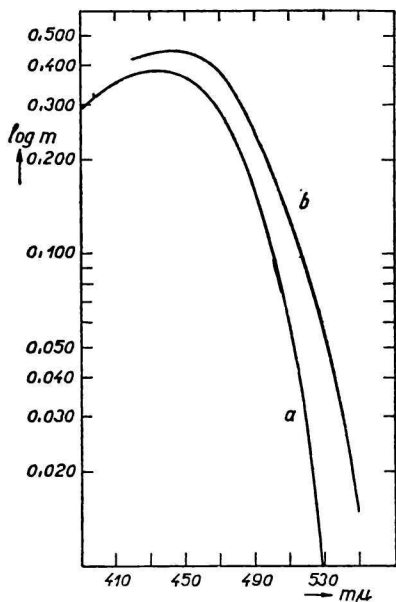


Diagram 1. Logaritmická extinkčná krivka produktu reakcie kyseliny *p*-diazobenzénsulfónovej s 10^{-4} M roztokom fenolu.

na úsečke nanesené vlnové dĺžky v $m\mu$ na poradnici nanesené logaritmy modulov extinkcie
krivka *a* získaná Hilgerovým spektrofotometrom
krivka *b* získaná Pulfrichovým fotokolorimetrom

Zistili sme, že pre nerozpustnosť farbiva, vznikajúceho reakciou kapsaicínu s kyselinou *p*-diazobenzénsulfónovou v organických rozpúšťadlách nemiešajúcich sa s vodou, kapsaicín možno kvantitatívne vytrepať do vodnej vrstvy.

Pre pokusy sme použili petroléterický roztok o koncentrácii kapsaicínu 18 γ /ml. 25 ml tohto roztoku sme vytrepali 15 ml tlmivého roztoku + 5 ml činidla. Vodnú vrstvu sme vypustili do 25 ml odmernej banky a po doplnení sme zmerali extinkciu. V tab. 1 sú uvedené extinkčné koeficienty a hodnoty pH tlmivých roztokov, ktorými sa vytrepávalo. Písmeno *B* značí borátový, *G* glycinový tlmivý roztok podľa Sørensen.

Ako z tab. 1 vidieť, extinkčné koeficienty pri použití borátových tlmivých roztokov sú značne vyššie než za použitia tlmivých roztokov glycinových.

Extinkčné krivky sme merali na Hilgerovom spektrofotometri so šírkou štrbiny 0,1 mm, čo odpovedá spektrálnemu intervalu priemerne 5 Å.

5. pH tlmivých roztokov sme stanovili vodíkovou elektródou s presnosťou $\pm 0,02$ pH. V reakčnej zmesi sme pH merali sklenou elektródou, ktorej kalibračná krivka bola stanovená na zmesiach tlmivých roztokov a 10 % roztoku chloridu sodného v tých pomeroch, aké sa použili na stanovenia. Presnosť stanovení bola $\pm 0,05$ pH.

6. *Koncentráciu alkoholu* v destiláte sme zisťovali ponorným refraktometrom s hranolom L 1. Presnosť bola priemerne $\pm 0,18$ g/l.

Výsledky a diskusia

1. Voľba reakčného prostredia

Pri voľbe rozpúšťadla pre kapsaicín bolo potrebné brať do úvahy podmienky stanovenia v koreninovej paprike, kde je nevyhnutné oddeliť kapsaicín od karotenoidných farbív. Benedek [6] extrahuje kapsaicín acetónom, z ktorého farbivá oddeľ trepaním s kerozénom. Spanyol [9] extrahuje éterom, extrakt po oddestilovaní éteru rozpustí v alkohole, zriedi 10 % roztokom NaCl a farbivá oddeľ vytrepaním do petroléteru.

Tabuľka 1

Druh tlmivého roztoku	pH	$a \cdot 10^2$
<i>B</i>	8,44	1,15
<i>B</i>	9,01	2,18
<i>B</i>	9,53	2,86
<i>B</i>	10,47	2,90
<i>G</i>	9,02	0,00
<i>G</i>	10,70	0,17
<i>G</i>	12,28	0,40
<i>G</i>	12,35	0,70

Pokusy ukázali, že vytrepávanie kapsaicínu z organického rozpúšťadla do alkalického tlmivého roztoku je možné iba v čistých systémoch. Pri prácach s extraktmi koreninovej papriky vznikajú veľmi stále emulzie. Pre ďalšiu prácu sme použili alkoholické roztoky kapsaicínu, kde oddelenie farbív vytrepávaním do petroléteru nerobí ťažkosti.

2. Vplyv koncentrácie alkoholu

Pre pokusy sme použili roztok kapsaicínu v 99,7 váh. % etylalkohole o koncentrácii 51,74 g/ml kapsaicínu (maximálna chyba $\pm 0,07$ %). K 25 ml tohto základného roztoku sme pridávali rozličné tlmivé roztoky, po pridaní 5 ml činidla sme doplnili na 50 ml destilovanou vodou a merali extinkciu.

Hodnoty extinkčných koeficientov sú značne nižšie v porovnaní s hodnotami v tab. 1 ($a \cdot 10^2 = 0,05$ — $0,155$ pre borátové tlmivé roztoky; pre glycinové tlmivé roztoky pH 8,34 a 9,02, $a \cdot 10^2 = 0,00$). Preto sme v ďalšom sledovali vplyv koncentrácie alkoholu. Získané výsledky uvádzame v tab. 2.

Tabuľka 2

10 ml roztoku kapsaicínu 10 ml <i>B</i> o pH 10,47 doplnené do ml 4 ml činidla	50	100	200
a	0,66	1,09	1,86

Ako vidieť z hodnôt v tab. 2, extinkčný koeficient vzrastá s klesajúcou koncentráciou alkoholu. Preto sme v ďalších pokusoch pristúpili k odstráneniu alkoholu z reakčnej zmesi destiláciou.

3. Vplyv rozličných podmienok destilácie

Destilovali sme z 50 ml baniek spojených s 30 cm chladičmi. Destilát sme zachytávali do 50 ml odmerných valcov. Po vydestilovaní určitého, pri každom pokuse uvedeného množstva destilátu bola banka so zvyškom rýchlo uzatvorená a ochladená na laboratórnu teplotu. Najprv sme skúšali destiláciu z neutrálneho a alkalického prostredia. K 10 ml alkoholického roztoku kapsaicínu sme do destilačnej banky pridali 15 ml 10 % roztoku NaCl. 10 ml tlmivého roztoku sme v prvom prípade pridali k zvyšku, v druhom prípade ešte pred destiláciou. Získané výsledky pre borátový tlmivý roztok o pH 10,47 sú uvedené v tab. 3. Koncentrácia alkoholu vo zvyšku bola vypočítaná zo známej

Tabuľka 3

Spôsob destilácie	$\alpha \cdot 10^2$	ml destilátu	Alkohol vo zvyšku g/l	pH
z neutrálneho prostredia	2,28	19	4,6	9,95
	2,08	19	4,8	9,95
	2,33	19	4,5	9,90
z alkalického prostredia	3,34	19	4,4	9,90
	3,34	19	4,5	9,92
	3,30	19	4,5	9,90

koncentrácie pridávaného roztoku kapsaicínu a zo stanovenej koncentrácie alkoholu v destiláte. Zvyšok po vyvolaní farebnej reakcie sme doplnili na 50 ml a extinkciu sme zmerali s filtrom *S 50* a pH sklenou elektródou.

Ako vidieť z tab. 3, destiláciu treba uskutočňovať z alkalického prostredia — extinkčné koeficienty sú vyššie a lepšie reprodukovateľné.

Skúšali sme tri spôsoby destilácie: destiláciu za zníženého tlaku s celkom uzatvorenou aparaturou, destiláciu za zníženého tlaku s kapilárou zasahujúcou do destilačnej banky a destiláciu za normálneho tlaku v atmosfére dusíka. Prvý spôsob dával dobré výsledky. Nevýhodou bol nepravidelný var, takže kvapalina z banky mohla niekedy vystreknúť až do chladiča a tak pokaziť stanovenie. Druhý spôsob sa vôbec neosvedčil. Výsledky boli nižšie až o 30 %, čo možno pričítať oxydácii kapsaicínu.

Najlepšie výsledky sme dosiahli destiláciou v dusíkovej atmosfére, ktorú sme používali pri všetkých ďalších stanoveniach.

4. Vplyv pH

Na zistenie vplyvu pH sme použili borátové tlmivé roztoky podľa Sörensen a v rozmedzí pH 9,10—12,09. Destiláciu sme uskutočňovali z alkalického pro-

stredia v dusíkovej atmosfére. Získané výsledky zachycuje tab. 4. Extinkčný koeficient si zachováva približne konštantnú hodnotu v rozmedzí pH 10,68 až 11,70.

Tabuľka 4

pH tlmivého roztoku	$a \cdot 10^2$	ml destilátu	Alkohol vo zvyšku g/l	pH
9,10	2,54	21,0	4,1	8,95
10,24	2,88	20,5	4,0	9,75
10,68	2,96	21,0	3,4	9,95
10,75	3,20	20,0	4,4	10,03
11,70	3,20	21,0	3,5	10,45
12,09	1,73	21,0	3,4	10,95

5. *Vplyv rozličných podmienok vyvolania farebnej reakcie, množstva pridaného činidla a časové zmeny extinkčného koeficienta*

Postupovali sme rovnako ako pri predchádzajúcich pokusoch. Po vydestilovaní asi 20—22 ml destilátu sme destiláciu prerušili, zvyšok v uzavretej banke sme ochladili, pridali činidlo v potrebnom množstve (pozri experimentálnu časť, odsek 2) a banku sme opäť uzavreli. Po uplynutí „doby vyfarbovania“, ktorú sme menili od 15 do 60 minút, obsah banky sme preliali do 50 ml odmernej banky. Extinkciu sme merali 10 minút po doplnení a po niekoľkých hodinách. Výsledky sú uvedené v tab. 5. Optimálnou dobou vyfarbovania je 15 minút. S časom extinkcia klesá; najrýchlejšie pri použití tlmivého roztoku o pH 11,67 — každú hodinu asi o 1,76 % pôvodnej hodnoty. Najmenší pokles sme pozorovali v tlmivých roztokoch Thieleho, a to 0,36 % pôvodnej hodnoty za jednu hodinu.

Hoci tlmivý roztok o pH 11,67 dáva vyššie hodnoty, na stanovenie kalibračnej priamky sme použili tlmivé roztoky podľa Thieleho. Pri ich použití sa neprejavuje vplyv vyfarbovania medzi 15—30 minútami a časové zmeny extinkcie sú veľmi malé. Okrem toho sa pripravujú jednoduchšie ako tlmivé roztoky podľa Sørensen.

V ďalších pokusoch sme volili dobu vyfarbovania 15 minút a extinkciu sme merali 10 minút po doplnení.

Údaje charakterizujúce vplyv množstva pridaného činidla uvádzame v tab. 6. V prvom stĺpci sú moduly extinkcie s fenolom, slúžiace na štandardizáciu činidla, ako sme to uviedli v experimentálnej časti, odsek 2. V druhom stĺpci sú uvedené extinkčné koeficienty po reakcii s kapsaicínom, zmerané pri dodržiavaní vyššie uvedených podmienok. Použili sme tri rozličné roztoky činidiel.

Tabuľka 5

Druh tlmivého roztoku a pH	ml destilátu	Alkohol vo zvyšku g/l	Doba vyfarbovania min.	$a \cdot 10^2$	$a \cdot 10^2$ v čase t hod.	
borát podľa Sörensenaa pH = 11,67	22,5	3,2	15	3,12	2,90	4
	22,0	3,4	30	2,92	2,81	2
	21,0	4,0	60	3,02	2,81	5
borát podľa Sörensenaa pH = 10,72	22,0	3,5	15	2,92	2,87	4
	21,0	3,7	30	2,74	2,76	2
	22,0	3,3	60	2,44	2,41	5
borát podľa Thieleho pH = 10,98	21,5	3,5	15	2,78	2,74	4
	22,5	3,2	30	2,78	2,74	2
	21,5	3,9	60	2,44	2,41	5
borát podľa Thieleho pH = 10,95	20,5	4,0	15	2,72	2,68	4
	20,5	4,2	30	2,74	2,74	2
	19,5	4,4	60	2,50	2,50	5

Tabuľka 6

m v prostredí 10^{-4} M fenolu	0,250	0,333	0,354	0,360	0,388	0,411
$a \cdot 10^2$	2,68	3,02	3,03	2,98	3,02	3,04

Extinkčné koeficienty sú dobre reprodukovateľné a konštantné v rozmedzí modulov extinkcie s fenolom od 0,333 do 0,411.

6. Overenie platnosti Lambert—Beerovho zákona — zostrojenie kalibračnej priamky

Na základe výsledkov predchádzajúcich pokusov sme zvolili tento štandardný postup: K 10 ml alkoholického roztoku kapsaicínu (použitý alkohol o koncentrácii 99,7 váh. %) sme pridali 15 ml 10 % roztoku NaCl a 10 ml borátového tlmivého roztoku podľa Thieleho. Po oddestilovaní 20—22 ml sme zvyšok v uzatvorenej banke ochladili vodou a pridali potrebné množstvo činidla. Po 15 minútach sme obsah banky preliali do 50 ml odmernej banky,

doplnili po značku a po 10 minútach sme merali extinkciu proti destilovanej vode.

Použili sme štandardný roztok kapsaicínu obsahujúci 32,0 γ /ml kapsaicínu (navážené s chybou maximálne $\pm 0,28$ %). Získané výsledky sú uvedené v tab. 7 a graficky znázornené na diagrame 2. Rovnica kalibračnej priamky je

$$m = 0,03058 c - 0,0039$$

Tabuľka 7

Koncentrácia kapsaicínu c γ /ml	6,40	5,76	5,12	4,48	3,84	3,20	2,56	1,92
m	0,192	0,175	0,153	0,128	0,114	0,092	0,076	0,056

Pravdepodobnej chybe v extinkcii (vypočítanej z priemernej odchýlky od regresnej priamky) rovnjej $\pm 0,0033$ odpovedá chyba v koncentrácii $\pm 0,0033 / 0,3058 = \pm 0,108$ γ /ml, t. j. $\pm 2,60$ % pre stred sledovaného intervalu koncentrácií (4,16 γ /ml).

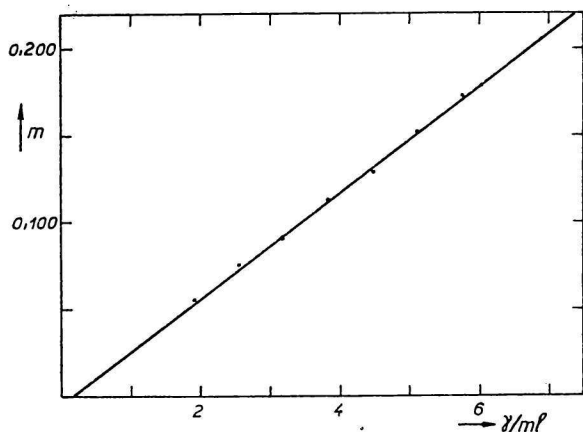


Diagram 2. Kalibračná krivka pre stanovenie koncentrácie kapsaicínu. na úsečke nanosená koncentrácia kapsaicínu v γ /ml na poradnici modul extinkcie zmeraný Pulfrichovým fotokolorimetrom s filtrom Š 50

7. Záver

Pre porovnanie citlivosti stanovenia kapsaicínu za podmienok uvedených v predchádzajúcom odseku s citlivosťou reakcie s kyselinou *p*-diazobenzén-sulfónovou podľa Spanyolara [9] a reakcie s metavanadičnanom amónnym

a kyselinou soľnou podľa Benedeka [8] použili sme tzv. *charakteristickú koncentráciu* [15], t. j. koncentráciu udanú v γ/ml , pri ktorej modul extinkcie roztoku je 1. Reakcia s metavanadičnanom amónnym a kyselinou soľnou je málo citlivá v porovnaní s reakciou s kyselinou *p*-diazobenzénsulfónovou. Jej charakteristická koncentrácia je $87 \gamma/\text{ml}$. Charakteristická koncentrácia pre

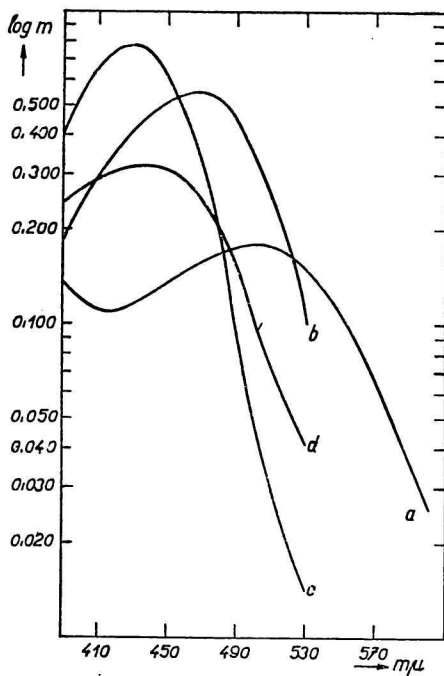


Diagram 3. Logaritmické extinkčné krivky farbív vzniknutých reakciou kyseliny *p*-diazobenzénsulfónovej s kapsaicínom (krivka *a*), gvajakolom (krivka *b*), rezorcínom (krivka *c*) a s fenolom (krivka *d*). Merané na Hilgerovom spektrofotometri

na úsečke nanesené vlnové dĺžky v $m\mu$
na poradnici logaritmy modulov extinkcie
koncentrácia kapsaicínu $0,21 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, ostatných
látok 10^{-4} M

reakciu s kyselinou *p*-diazobenzénsulfónovou podľa Spanyolara je $5,0 \gamma/\text{ml}$, podľa nás $3,45 \gamma/\text{ml}$. Stanovenie kapsaicínu za podmienok uvedených v odseku 6 poskytuje presnejšie výsledky. Podľa Spanyolara stanovenie $5 \gamma/\text{ml}$ kapsaicínu je zaťažené chybou $\pm 10 \%$, v našom prípade asi $\pm 2,2 \%$.

Pre objasnenie mechanizmu účinku borátových tlmivých roztokov sme sledovali priebeh reakcie kyseliny *p*-diazobenzénsulfónovej s fenolom, pyrokatechínom, rezorcínom, hydrochinónom, gvajakolom a vanilínom postupom ako pri štandardizácii roztokov činidla (experimentálna časť, odsek 2), s tým rozdielom, že okrem Thieleho tlmivého roztoku pre $\text{pH} = 11$ sme použili aj Sörensenov glycinový tlmivý roztok o rovnakom pH . Po vykonaní reakcie sme extinkčné krivky jednotlivých roztokov merali na Hilgerovom spektrofotometri. Pyrokatechín a hydrochinón podliehajú v alkalickej prostredí oxy-

dácii a s kyselinou *p*-diazobenzénsulfónovou nereagujú. Rovnako za týchto podmienok nereaguje ani vanilín. Fenol, rezorcín a gvajakol reagujú rovnako v glycinovom, ako aj v borátovom tlmivom roztoku za vzniku žltého sfarbenia. Logaritmické extinkčné krivky produktu reakcie kyseliny *p*-diazobenzénsulfónovej s fenolom, rezorcínom, gvajakolom a kapsaicínom znázorňuje diagram 3.

V prípade fenolu a gvajakolu kopulácia prebieha v *p*-polohe k fenolickému hydroxylu. Pri kapsaicíne je táto poloha obsadená a kopulácia prebieha

v *o*-polohe. Vzniká chelátotvorné zoskupenie [16]. V prítomnosti borátu sa tvorí chelát, čo sa prejaví batochrómnym efektom. Toto vysvetlenie mechanizmu účinku borátových tlmivých roztokov potvrdzuje aj skutočnosť, že farbivo vzniknuté kopuláciou kyseliny *p*-diazobenzénsulfónovej s kapsaicínom má acidobázické vlastnosti (farebný prechod žltá — červená pri pH 7—9). Batochrómnny efekt vzniká aj za prítomnosti iónov Pb^{2+} , pričom sfarbenie je titrovateľné komplexonom. Tieto otázky budú predmetom ďalšej práce.

Čistotu kapsaicínu prekontroloval inž. J. Beicht.

Súhrn

Sledovali sa podmienky kopulácie kyseliny *p*-diazobenzénsulfónovej s kapsaicínom. Kyselina *p*-diazobenzénsulfónová sa používala v 0,1 N roztoku HCl, štandardizovanom extinkciou roztoku farbiva vzniknutého kopuláciou s fenolom. Pri stanovení kapsaicínu v borátových tlmivých roztokoch sú extinkčné koeficienty podstatne vyššie než v glycinových tlmivých roztokoch o rovnakom pH. Prítomnosť alkoholu znižuje citlivosť reakcie, preto bol z prostredia odstraňovaný destiláciou v atmosfére dusíka. Hodnota extinkčného koeficienta je približne konštantná v rozmedzí hodnôt pH 10,68—11,70, realizovaných borátovými tlmivými roztokmi. Pre presnú reprodukovateľnosť podmienok sa v ďalšom používal borátový tlmivý roztok Thieleho o pH = 11,0. Rovnica kalibračnej priamky je

$$m = 0,03058 c - 0,0039$$

Pravdepodobná chyba v koncentrácii je $\pm 0,108 \text{ } \gamma/\text{ml}$, t. j. $\pm 2,60 \%$ pre stred sledovaného intervalu ($4,16 \text{ } \gamma/\text{ml}$). Charakteristická koncentrácia je $3,45 \text{ } \gamma/\text{ml}$.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАПСАИЦИНА (I) РЕАКЦИЯ КАПСАИЦИНА С П-ДИАЗОБЕНЗЕНСУЛЬФОНОВОЙ КИСЛОТОЙ

ВЛАДИМИР ЗИТКО

Отделение глицидов и биохимии Химического института Словацкой Академии Наук
в Братиславе

Выводы

Были исследованы условия копуляции *p*-дiazобензенсульфонової кислоты с капсаицином. *p*-дiazобензенсульфонової кислота была применена в 0,1 N растворе соляной кислоты, который был стандартизирован экстинкцией раствора краски, полученной копуляцией с фенолом. При определении капсаицина в боратных буферных растворах экстинкционные коэффициенты бывают значительно выше, чем в глициновых буферных растворах при одинаковом значении pH. Присутствие спирта понижает чувствительность реакции, поэтому последний был отстранен из среды дистилляцией в атмосфере азота. Значение коэффициента экстинкции является приблизительно посто-

янным в границах значения pH 10,68—11,70, реализованных боратными буферными растворами. Для точной воспроизводимости условий был в дальнейшем применен буферный раствор Тиеле с значением pH 11,0. Уравнение кривой калибрации равно

$$m = 0,03058 c - 0,0039$$

Вероятная ошибка в концентрации равняется $\pm 0,108$ $\gamma/\text{мл}$, т. е. $\pm 2,60$ % для среднего исследованного интервала (4,16 $\gamma/\text{мл}$). Характеристическая концентрация равна 3,45 $\gamma/\text{мл}$.

Поступило в редакцию 2. 2. 1957 г.

BESTIMMUNG VON KAPSAICIN (I) REAKTION DES KAPSAICINS MIT *p*-DIAZOBENZOLSULFONSÄURE

VLADIMÍR ZITKO

Abteilung Glycide und Biochemie des Chemischen Instituts an der Slowakischen Akademie
der Wissenschaften in Bratislava

Zusammenfassung

Es wurden die Bedingungen der Kopulation von *p*-Diazobenzolsulfonsäure mit Kapsaicin beobachtet. Die *p*-Diazobenzolsulfonsäure wurde in 0,1 *N* Salzsäure-Lösung verwendet, die durch Extinktion der Lösung des durch Kopulation mit Phenol entstandenen Farbstoffs standardisiert wurde. Bei der Bestimmung des Kapsaicins in Borat-Pufferlösungen liegen die Extinktionskoeffizienten wesentlich höher, als in Glycin-Pufferlösungen vom gleichen pH-Wert. Die Anwesenheit von Alkohol setzt die Empfindlichkeit der Reaktion herab, deshalb wurde er aus dem Medium durch Destillation in einer Stickstoffatmosphäre beseitigt. Der Wert des Extinktionskoeffizienten ist im Bereich von pH 10,68—11,70 annähernd konstant, wobei diese Werte durch Borat-Pufferlösungen realisiert werden. Zur genauen Reproduzierbarkeit der Bedingungen wurde im weiteren eine Borat-Pufferlösung nach Thiele mit pH 11,0 verwendet. Die Gleichung der Eichgeraden ist

$$m = 0,03058 c - 0,0039$$

Der wahrscheinliche Fehler in der Konzentration beträgt $\pm 0,108$ $\gamma/\text{мл}$, d. i. $\pm 2,60$ % für die Mitte des beobachteten Intervalls (4,16 $\gamma/\text{мл}$). Die charakteristische Konzentration ist 3,45 $\gamma/\text{мл}$.

In die Redaktion eingelangt den 2. 2. 1957

LITERATÚRA

1. Micko K., Z. Untersuch. Lebensmitt. 1, 818 (1897). — 2. Morbitz, Pharm. Zentralhalle 38, 583 (1897); ref. v Micko K., Z. Untersuch. Lebensmitt. 2, 414 (1898). — 3. Wasicky R., Klein F., Festschrift Alex. Tschirch 1926, 357—361; ref. Z. Untersuch. Lebensmitt. 60, 559 (1930). — 4. Wales, Palkin, J. am. chem. Soc. 48, 817 (1929); ref. v Newman A. A., Chem. Products 16, 413—417 (1953). — 5. Fodor K., Z. Untersuch. Lebensmitt. 61, 94—97 (1931). — 6. Benedek L., É. Ipar VII, 123—127 (1953). — 7. North H., Anal. Chem. 21, 934—936 (1949). — 8. Hippenmeier F., Promotionsarbeit, Zürich 1949; ref. v Benedek L., É. Ipar VII, 123—127 (1953). — 9. Spanyol P., Kevei J., Kiszal J., É. Ipar X, 52—58 (1956). — 10. Schulte K. E., Krüger H. M., Z. anal. Chem. 147, 266—270 (1955).

11. Gál I., Gombkötö G., *Él Ipar IX*, 313—314 (1955). — 12. Newman A. A., *Chem. Products 16*, 413—417 (1953). — 13. Hanč O., *Chemická laboratorní příručka*, Praha 1951, 247—250. — 14. Schwabe K., *Fortschritte der pH-Messtechnik*, Berlin 1953, 27. — 15. *Absorbionnaja spektroskopija*, Moskva 1953, 28. — 16. Körbl J., Přibil R., *Chem. Listy 51*, 302—310 (1957).

Došlo do redakcie 2. 2. 1957