

7  
544.92  
C962C  
1976  
F.C.C.QQ.



UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA  
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN APLICADA Y  
TESIS PROFESIONALES

TEMA:

"CUANTIFICACION DE LA CAPSAICINA EN LOS FRUTOS DEL  
CAPSICUM ANNUUM VAR. CONOIDES, POR METODOS CROMATO  
GRAFICOS Y ESPECTROFOTOMETRICOS"

TESIS PARA OPTAR AL  
TÍTULO DE LICENCIADO EN  
QUÍMICA Y FARMACIA.

MARÍA ARACELY CUBÍAS SILVA  
1976.



UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR : DR. CARLOS ALFARO CASTILLO

SECRETARIO : DR. MANUEL ATILIO HASBÚN

FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA

DECANO : DR. AMILCAR AVENDAÑO Y ORTIZ

SECRETARIA : DRA. MARÍA GLADIS DE MENA GUERRERO

J U R A D O

DRA. ROSA MARÍA PORTILLO DE RIVAS

DR. AMILCAR AVENDAÑO Y ORTIZ

DR. ROMEO AMILCAR ROVELO BATRES

DEDICATORIA:

A MIS PADRES

A MIS HERMANOS Y FAMILIARES

A MIS COMPAÑEROS Y AMIGOS

CON TODO CARIÑO Y AGRADECIMIENTO

## AGRADECIMIENTO

A DR. ROMEO AMÍLCAR ROVELO BATRES  
PROF. JORGE ADALBERTO LAGOS

Y A TODAS LAS PERSONAS QUE EN UNA  
U OTRA FORMA SE INTERESARON Y -  
CONTRIBUYERON PARA QUE MI TRABA  
JO LLEGARA A REALIZARSE.-

## I N D I C E

	<u>Página</u>
1- RESUMEN .....	1
2- INTRODUCCION .....	2
3- GENERALIDADES .....	4
4- DESCRIPCION DE LA ESPECIE .....	6
5- PARTE EXPERIMENTAL .....	7
5-1) Material y Equipo .....	7
5-2) Métodos de Extracción .....	10
5-3) Reacciones Preliminares de Identifi cación .....	11
5-4) Técnicas Cromatográficas en Capa fi na .....	13
5-5) Espectrometría I. R. ....	16
5-6) Métodos Cuantitativos .....	17
5-61) Método Merck .....	17
5-62) Método del Vanadato de Amonio	19
6- RESULTADOS .....	21
6-1) Tablas .....	24
6-2) Gráficos .....	28
6-3) Espectros .....	30
7- CONCLUSIONES .....	32
8- BIBLIOGRAFIA .....	33

## RESUMEN

En el presente trabajo se estudió la especie Capsicum annuum var. conoides, en la que se investigó, cualitativa y cuantitativamente, la Capsaicina presente en el fruto.

Este trabajo se desarrolló en la siguiente forma:

1. Extracción de la capsaicina con solventes neutros.
2. Identificación preliminar, mediante pruebas generales para alcaloides, y una prueba específica para capsaicina.
3. Aislamiento por cromatografía en capa fina; se usó como revelador físico una lámpara ultravioleta (onda corta) y se comparó con un patrón.
4. Identificación posterior, mediante espectroscopía infrarroja (I.R.)
5. Cuantificación, se llevó a cabo por dos métodos: Método Merck y método del Vanadato de Amonio. De ellos, el que dió mejor resultado fue el del Vanadato de Amonio.

## I N T R O D U C C I O N

La presente tesis tiene como objetivo continuar con la búsqueda de materias primas vegetales, de importancia farmacéutica, de la flora nacional. Dado el incremento que han tenido, en las últimas décadas, los estudios fitoquímicos, nuestra Facultad ha dispuesto realizar este tipo de trabajos.

En vista de lo anterior, fue seleccionada la especie *Capsicum annum* var. *conoides*, conocida popularmente como chile "espuela de gallo", a fin de investigar el contenido de capsaicina del fruto.

La capsaicina, que es un alcaloide<sup>1</sup>, tiene propiedades tóxicas y curativas, además de constituir un condimento. Esto despertó el interés por conocer, desde los comienzos del siglo pasado, la naturaleza de esta sustancia; habiendo sido Tresh quien aisló, en 1876, el principio activo y lo denominó capsaicina. Más tarde, en 1919, Nelson aclaró la fórmula empírica y estructural; posteriormente Späth y Darling, en 1930, la sintetizaron<sup>2</sup>.

Las propiedades medicinales de la capsaicina son utilizados en el tratamiento contra la artritis crónica, la neuritis, las mialgias, el lumbago, la tendovaginitis y otras similares, por tener la propiedad de producir un efecto hiperémico; pero su acción es únicamente local y de uso exter-

---

<sup>1</sup>Raffauf, R.F.: A. Handbook of Alkaloid. Containing Plants, N.Y. Wiley-Interscience. 1970.

<sup>2</sup>Molnar, J.: Die Pharmakologischen Wirkungen des Capsaicina, des Scharf Scheneckenden Wirkstoffes in Paprika. *Arzneimittelforsch*, 15, (7):718 (1965).

no. Ya existen en el mercado productos farmacéuticos antirreumáticos a base de capsaicina, en forma de pomadas, pastas, cremas, emplastos, linimentos, emulsiones y lociones. Constituye uno de los representantes ca--racterísticos del grupo farmacológico de los rubefacientes, y ejerce una acción irritativa enérgica sobre la piel y las mucosas. Aumenta la circulación y aviva el metabolismo y se presta para la aplicación local, donde la sangre no circule bien, ya sea en la piel o en los músculos. Por ello, la capsaicina ha adquirido importancia no sólo en medicina, sino también en cosmética<sup>1</sup>.

Por la importancia que representa el chile, en la industria farmacéutica, fue que se escogió para hacer un análisis cualitativo y cuantitativo de la capsaicina que, como se dijo al principio, está contenido en el fruto. Estos estudios se hicieron por métodos cromatográficos y espectrofotométricos. Se espera que los resultados sean de importancia para nuestro país.

---

<sup>1</sup>Merck. Capsaicina. Art. 2179

GENERALIDADES

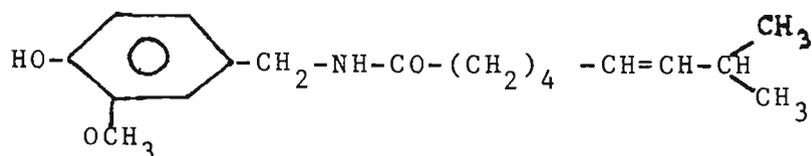
La capsaicina, es la sustancia activa y picante que se encuentra en el Capsicum<sup>1</sup>.

Datos Fisicoquímicos:

Fórmula empírica : C<sub>18</sub>H<sub>27</sub>NO<sub>3</sub>

Peso molecular : 305.42 g.

Fórmula estructural:



Sinónimos:

(1)- Vainillilamida del ácido 7- metil-octen-(5)-carboxílico.

Amida del ácido N-vainillil-7-metil-octen-(5)-carboxílico<sup>2</sup>.

Aspecto:

La capsaicina es un líquido espeso, fluido y volatilizable si se calienta<sup>3</sup>.

Forma cristales finos brillantes, casi blancos y transparentes que se funden a los 64.5 grados centígrados; puede ser destilada a 210-220 grados centígrados, sin peligro a descomponerse; se sublima a 115 grados centígrados.

<sup>1</sup> Molnar, J.: Die Pharmakologischen Wirkungen des Capsaicins, Scharf-Schemeckenden Wirkstoffes im Paprika. Arzneimittelforsch. 15 (7): 718 (1965).

<sup>2</sup> Merck. Capsaicina. art. 2179.

<sup>3</sup> Guzmán, David J.: Especies Útiles de la Flora Salvadoreña. 2a. Ed., 358, 1950.

Solubilidad:

Insoluble en agua fría, sorbita líquida, glicerina y parafina líquida; - fácilmente soluble en éter, etanol, metanol, isopropanol, cloroformo, -- benceno, tetracloruro de carbono, benzol y homólogos de benzol, así como en soluciones alcalinas. Se disuelve un 20% en propilenglicol, poliglicol 300 y poliglicol 400. Es difícilmente soluble en sulfuro de carbono, aceite de olivas y ácido sulfúrico concentrado<sup>1</sup>.

El color rojo del fruto se debe a una mezcla de mono y diesteres de los ácidos laurico, mirístico y palmítico con xantófila. Además, contiene - capsantina y Capsorrubina que son los principales carotenoides. Contiene flavonoides y capsicidina, que es una saponina<sup>2</sup>.

---

<sup>1</sup>Merck. Capsaicina. Art. 2179.

<sup>2</sup>Hoppe, H.A. - "Drogenkunden" - 1958. Cram, de Gruyter & Co. Hamburgo.

DESCRIPCION DE LA ESPECIE

Nombre científico : Capsicum annum var. conoides

Familia : Solanáceas ✓

Nombre vulgar : Chile espuela de gallo.

Es una planta leñosa de aproximadamente 70 cm. de alto; tallo ramificado y delgado, color castaño en la parte inferior y verde en las ramas jóvenes. Hojas sencillas, alternas, ovaladas u ovalolanceoladas; haz - verde oscuro y envés verde claro. Flores solitarias y axilares; cáliz - color verde y con cinco sépalos soldados; corola de cinco pétalos, color amarillo verdoso; con cinco estambres color gris oscuro; ovario súpero. Fruto cónico, alargado de dos a tres centímetros de largo, aproximadamente, de color verde amarillento cuando joven y rojo al madurar<sup>1</sup>.

---

<sup>1</sup>Lagos, J.A.

Comunicación personal

PARTE EXPERIMENTALMaterial y Equipo:Material:

La especie seleccionada fue el fruto de *Capsicum annum var. conoides*; se secas a 40 grados centígrados en una estufa; los cuales fueron recolectados en los alrededores de San Salvador, entre los meses de mayo y julio de 1975. Estando dicho lugar a una altura de 750 mts. sobre el nivel del mar.

Reactivos (p.a.):

Acetato de etilo

Acetona deshidratada

Acido acético glacial

Acido clorhídrico diluido

Acido clorhídrido al 36%

Acido fosfomolibdico.

Acido orto fosfórico

Acido sulfúrico concentrado

Acido sulfúrico diluido

Amoníaco diluido

Benceno

Capsaicina patrón.

Carbonato de sodio, solución saturada.

Celulosa

Cloroformo

Cloruro de amonio cristalizado

Dragendorff.

Dicromato de potasio

Etanol

Eter etílico

Eter de petróleo

Hidróxido de bario cristalizado

Hidróxido de sodio al 2%.

Hidróxido de sodio, solución 0.1 N.

Mayer

Metanol

Metil etil cetona

Silicagel

Tungstato de sodio

Vanadato de amonio cristalizado

Wagner.

Equipo:

Agitador mecánico (Garver Shaker. MFG.Co. Serial 2241, Model 24OR).

Aplicador, con jeringa especial (Desaga Heidelberg, F.A.V 2A).

Balanzas corrientes.

Balanzas analíticas

Bombas de vacío

Cámara extractora de gases. .

Cámaras de vidrio (para cromatografía).

Cascos protectores (Sellstrom 380. Pat. Pend. 6-.040).

Cromatoplacas 20 x 20 cm.

Centrífugas

Equipo de vidrio, el de rutina en el laboratorio

Estufas

Espectrofotómetro con registrador automático (Perkin Elmer 124).

Evaporador (U.S.P. At.2.865, 44J.).

Calentador eléctrico (hot plate).

Lámpara U.V.(52-25, long. de onda corta y larga)

Mantas de calentamiento.

Mesa corredora de placas (Desaga Heidelberg. 0-2 mm. 74-14972).

Morteros

Placa de múltiple propósito (Desaga Heidelberg Start. Stahl. 120131).

Refrigerantes

Secador a vapor (Heat-Blo. Model 500. Serial No. C-10765).

Soxhlet.

Succionador (Desaga Heidelberg)

Termostatos. (Type - 2Pf. 1010).

## METODOS DE EXTRACCION

### 1. Método de Reflujo.

Se utilizó etanol, como solvente y 50 g. de frutos. El reflujo se llevó a cabo durante ocho horas, hasta que se obtuvo un extracto completo; - luego se concentró por destilación.

### 2. Extracción líquido-líquido

Con objeto de conocer la afinidad de la capsaicina por diferentes solventes, se sometió el extracto etanólico a la acción de cinco solventes distintos; se empleó para cada uno de ellos extracción fraccionada. Dichos solventes fueron en su orden respectivo:

Benceno

Eter de petróleo

Cloroformo.

Acetato de etilo

Metil etil cetona

Esta secuencia se escogió de acuerdo con la polaridad de ellos en orden ascendente.

### 3. Extracción con soxhlet:

Los frutos se secaron a 60 grados centígrados, en estufa, durante ocho días; luego se redujeron a polvo fino; a continuación se realizaron dos extracciones separadas, en la forma siguiente:

- a) Se tomaron 10 g. de chile para extraer la capsaicina; en esta operación se usó un soxhlet y cloroformo como solvente. La extracción finalizó con el agotamiento de la droga. El extracto obtenido, se com-

pletó con cloroformo hasta 100.0 ml.<sup>1</sup>

- b) Se tomaron 45 g. de chile para extraer la capsaicina; esta operación se realizó en la misma forma anterior, pero usando etanol como solvente.<sup>2</sup>

### REACCIONES PRELIMINARES DE IDENTIFICACION

Ya que la capsaicina es un alcaloide, la identificación preliminar se llevó a cabo en la forma siguiente:

#### 1) Pruebas Generales para Alcaloides<sup>3</sup>

- A) Se pulverizó 1 g. de chile, se agregaron 5 ml. de ácido clorhídrico diluido, se agitó durante 3 minutos aproximadamente, se decantó; y al extracto ácido obtenido, se le hicieron las pruebas siguientes:
- a) Prueba de Dragendorff
  - b) Prueba de Mayer
  - c) Prueba de Wagner

---

<sup>1</sup>Merck. Información sobre Cromatografía en capa fina. v: Colorimetría de Capsaicina en la Pimienta de Cayena.

<sup>2</sup>Büchi, J., und Hippenmier, F.: Zur Wetherstimmung Von Rein Capsaicin und Capsaicin-haltigen Drogen und Präparaten. Pharmaceutica Acta Helvetiae. Zurich, 23, 327 (1948)

<sup>3</sup>Domínguez, Jorge Alejandro. Métodos de Investigación Fitoquímica - México, RTAC/AID, Limusa. 217-218, 1973.

B) Se pulverizó 1 g. de chile, se agregaron 5 ml. de cloroformo, se agitó durante 3 minutos aproximadamente, se decantó; y al extracto clorofórmico obtenido, se le practicaron las pruebas siguientes:

- a) Prueba con ácido sulfúrico concentrado
- b) Prueba con ácido nítrico concentrado
- c) Prueba con dicromato de potasio más ácido sulfúrico concentrado.

2) Prueba Específica para Capsaicina<sup>1</sup>

Se calientan 0.5 g. de la droga pulverizada con 5 ml. de alcohol al 70% (v/v), a baño de maría a ebullición, se enfría y se filtra; la solución obtenida se evapora a sequedad sobre baño de maría, en una cápsula de porcelana, se adiciona al residuo unas gotas de ácido sulfúrico concentrado. Se forma una coloración oscura que gira a violeta, esta última coloración se observa sobre todo en los bordes.

---

<sup>1</sup> Italia. Ministero Della Sanita. Farmacopea Ufficiale Della Repubblica Italiana. 8 Ed. Roma V2. P.235. 1975

TECNICAS CROMATOGRAFICAS EN CAPA FINA

1) A los cinco extractos obtenidos de la extracción líquido-líquido, se les practicó la cromatografía en capa fina; se utilizó celulosa como soporte y, como eluyentes, se experimentaron distintos solventes, tanto puros como mezclas de ellos, para observar con cuál o cuáles se obtenía mejor separación y corrimiento.

Solventes puros utilizados:

Acetato de etilo

Acetona

Benceno

Etanol

Eter de petróleo

Metanol

Mezclas utilizadas:

Benceno-Acetona-éter de petróleo (30:3):40) (V:V:V)

Eter de petróleo-metanol (30:70)

Eter de petróleo-etanol (40:60)

Eter de petróleo-metanol (50:50)

Eter de petróleo-etanol (30:70)

Acetato de etilo-etanol (30:70)

Acetato de etilo-etanol (50:50)

Cloroformo-metanol (50:50)

Benceno-etanol (30:70)

Benceno-etanol (80:20)

Después de corridas las placas, se identificó la capsaicina mediante luz ultravioleta (onda corta), por cuanto dicha sustancia es sensible a ella, y se observó en forma de una banda oscura y con un Rf de 10.5.

## 2) Método Merk<sup>1</sup>

Al principio este método fue realizado en forma cualitativa, puesto que la finalidad era observar si la mezcla utilizada como eluyente dada por dicho método, era adecuada para separar la capsaicina de la especie estudiada.

Como los resultados fueron satisfactorios, se realizó este método en forma cuantitativa.

Se procedió a cromatografiar en capa fina, el extracto clorofórmico obtenido de la extracción con soxhlet. Se utilizaron placas de silicagel con un grosor de 750 micras, activadas durante 60 minutos a 120 grados centígrados.

Para efectos de comparación, se preparó una solución patrón de capsaicina con 0.010 g. de capsaicina pura hasta 10.0 ml. de cloroformo.

### Esquema de Aplicación

La placa (20x20 cm), se dividió en cinco bandas de 3 cm. de ancho, y -- bordes libres de 2.5 cm.

Las soluciones problema y patrón se aplicaron con jeringas especiales, en forma de estrías en las respectivas bandas.

---

<sup>1</sup>Merck. Información sobre Cromatografía en capa fina. V: Colorimetría - de Capsaicina en la Pimienta de Cayena.

Banda 1: 0.2 microlitros de solución patrón (igual a 0.2 microgramos de capsaicina.)

Banda 2: 1.0 microlitros de extracto de la droga.

Banda 3: 0.7 microlitros de solución patrón (igual a 0.7 microgramos de capsaicina).

Banda 4: 1.0 microlitros de extracto de la droga.

Banda 5: 1.2 microlitros de solución patrón (igual a 1.2 microgramos de capsaicina).

Revelado:

La cámara de revelado se impregnó de cloroformo y se saturó durante 30 minutos.

Con el fin de eliminar las grasas del extracto, se reveló la placa, dos veces, en cloroformo; luego, en otra cámara de revelado, se colocaron - 100 ml de eluyente: cloroformo-metanol-ácido acético glacial (95:5:1) -- (v:v:v) y se dejó en reposo durante 30 minutos, para lograr una saturación completa; después se ajustaron las placas en la cámara y se revelaron hasta una altura de 14 cm. (medida desde el punto de aplicación).

Identificación:

Después de secar la placa al aire, se marcaron las zonas de capsaicina a la luz de la lámpara de cuarzo (luz ultravioleta de onda corta, para análisis, longitud máxima: 254 nm).

ESPECTOMETRIA INFRARROJA (I.R.)<sup>1,2,3</sup>

La capsaicina aislada por cromatografía en capa fina, fue raspada de las placas, y el polvo que la contenía fue tratado con cloroformo caliente, en el cual se solubilizó; y luego, fue pasada por papel filtro con objeto de separarla de la celulosa. Este extracto se concentró mediante vacío, luego, con este concentrado se sacaron varios espectros al infrarrojo, los cuales se compararon con espectros de capsaicina patrón.

---

<sup>1</sup>Merck. Uvasol. Disolventes para espectroscopía.  
Darmstadt, Alemania. p. 52-53.

<sup>2</sup>Morrison and Boyd. Organic Chemistry. Allyn and Bacon, Inc. Boston,  
Second Edition. p.452, 606 y 690. 1966.

<sup>3</sup>Nakanishi, Koji. Infrared Absorption Spectroscopy Practical. Holden-Day,  
Inc; San Francisco, and Nankodo Company Limited. Tokyo. p.24, 27 y 167.  
1962.

MÉTODOS CUANTITATIVOSMétodo Merck:<sup>1</sup>

La capsaicina previamente aislada por este método, en cromatografía en capa fina, fue raspada de las placas y el polvo correspondiente a cada zona, fue colocado en baloncitos volumétricos de 25 ml. cada uno y se mezcló con 5 ml. de hidróxido de sodio en solución 0.1 N y, a continuación, se agitaron; luego se añadieron a cada baloncito 5 ml. de solución de reactivo de Folin-Denis. Se dejaron 5 minutos en reposo y se aforaron con solución saturada de carbonato de sodio. Las soluciones se pasaron a Erlenmeyer de 50 ml. y se agitaron durante 30 minutos. Después, para separar las soluciones de la silicagel, se centrifugaron; luego se filtraron y, finalmente, fueron leídas en un espectrofotómetro a 730 nm. Con los valores patrones obtenidos, se trazó una curva de contraste; -- luego, por interpolación se dedujo el contenido de capsaicina en la solución problema.

Método del Vanadato de Amonio:<sup>2</sup>

Este método se basa en la propiedad que tiene la la capsaicina de reducir las sales de vanadio; con esta reacción se obtienen compuestos de color azul.

En esta tesis se usaron dos variantes:

a) Por colorimetría visual,

---

<sup>1</sup>Merck. Información sobre Cromatografía en capa fina. v: Colorimetría de Capsaicina en la Pimienta de Cayena.

<sup>2</sup>Csedö, K; Kopp, E.: Studien über die in der Theorie Verwendbaren Paprikasorten-Pharmazie. 19, 541 (1964)

b) Por espectrofotometría.

a) Por Colorimetría Visual:

Preparación de la muestra

se pulverizó lg. de frutos maduros; luego se introdujo en una botella babcock que contenía 10 ml. de acetona deshidratada y se agitó durante 30 minutos; se centrifugó, se decantó y se llevó a 5 ml. con acetona; a continuación se vertió en un tubo de ensayo y se agregaron 0.2 ml. de ácido clorhídrico al 36% y 0.05 g. de vanadato de amonio cristalizado y se agitó. Posteriormente se comparó el color de esta solución con la solución patrón.

Preparación de la solución patrón

Se pesó 1.0 mg. de polvo de capsaicina patrón y se llevó a 25 ml. con acetona. La solución obtenida, que contenía una concentración de 4 mg% o 0.004%, se agitó durante 10 minutos y luego se dejó en reposo. Después, se tomaron 10 tubos Nessler y se agregó a cada uno de ellos una cantidad de dicha solución, en el siguiente orden: 1.0, 1.10, 1.25, 1.50, 1.75, 2.0, 2.25, 2.50, 2.75 y 3.0 mls.; luego se agregó acetona a cada uno de los diez tubos hasta completar 5 ml. y 0.2 ml. de ácido clorhídrico al 36% más 0.05 g. de vanadato de amonio cristalizado, y se agitaron.

b) Por espectrofotometría

En vista de que los resultados por colorimetría visual fueron negativos, estas soluciones se llevaron al espectrofotómetro y se leyeron a 730 nm.

Modificaciones al MétodoPatrones Modificados

- 1) Se repitió el proceso anterior, pero se partió de una solución madre con una concentración de 20 mg% ó 0.02%, para la preparación de los diez patrones.
- 2) Nuevamente se prepararon tres patrones, con las concentraciones siguientes: 20 mg%, 40 mg% y 80 mg% (0.02%, 0.04% y 0.08%).
- 3) Lo anterior nos dió un indicio del rango de concentración con el que se podía trabajar para detectarlo en el espectrofotómetro; y en base a ello se prepararon otros patrones, a partir de una solución madre con una concentración de 40 mg% (0.04%), en la siguiente forma:

Patrón 1: al 0.03%

Solución madre - 6 ml.  
Acetona - 2 ml.

Patrón 2: Al 0.02%

Solución madre - 4 ml.  
Acetona - 4 ml.

Patrón 3: Al 0.015%

Solución madre - 3 ml.  
Acetona - 5 ml.

Patrón 4: Al 0.01%

Solución madre - 2 ml.  
Acetona - 6 ml.

Patrón 5: Al 0.005%

Solución madre - 1 ml.  
Acetona - 7 ml.

A cada uno de estos patrones, se les agregaron 0.2 ml. de ácido clorhídrico al 36% y 0.05 g. de vanadato de amonio cristalizado y se leyeron en el espectrofotómetro a 730 nm.

4) Con el fin de encontrar el límite máximo factible para ser leído por el aparato, se preparó un patrón adicional al 35%.

#### Muestras Modificadas

1) Las siguientes cantidades: 2.0 g, 1.5 g y 1.0 g, de polvo de frutos maduros, fueron colocados en recipientes babcock (para favorecer la agitación en el agitador mecánico), a los cuales se les agregaron 10 ml. de acetona y se agitaron por 30 minutos, luego se decantaron, se centrifugaron; después las soluciones diáfanas se llevaron a 8 ml. con acetona y se les agregó 0.2 ml. de ácido clorhídrico al 36% más 0.05 g. de vanadato de amonio cristalizado; se agitaron, se filtraron, (para eliminar residuos de grasa) y se tomaron las lecturas en el espectrofotómetro a 730 nm.

2) Dado que los resultados anteriores no fueron del todo satisfactorios, se resolvió verificar de nuevo este método; y se trató de establecer el límite máximo de concentración detectada por el espectrofotómetro. Se variaron las cantidades utilizadas de muestra, y se prepararon en la forma anteriormente descrita cuatro muestras, con las siguientes cantidades: 1.2 g, 1.1 g, 1.0g y 0.8 g.

3) El siguiente paso fue tratar de establecer el rango mínimo; para ello se prepararon cinco muestras con las siguientes cantidades: 0.9 g, 0.8g, 0.7 g, 0.6 g, 0.5 g, 0.4 g, 0.3 g, 0.2 g, 0.1 g, 0.05 g, 0.04 g, y 0.03 g.

4) Una vez establecidos los límites, tanto máximo como mínimo, se prepararon 11 soluciones con las siguientes cantidades de droga: 0.05g, 0.1g, 0.2g, 0.3g, 0.4g, 0.5g, 0.6g, 0.7g, 0.8g, 0.9g y 1.0g; con objeto de graficar los resultados obtenidos y, en esta forma encontrar por interpolación, la concentración de la muestra, Este método se realizó siete veces, a fin de constatar la confiabilidad de los resultados.

### RESULTADOS

#### Reacciones preliminares de identificación

##### 1) Pruebas Generales

REACTIVO	RESULTADOS
Dragendorff	Precipitado café oscuro (+)
Mayer	Precipitado amarillo (+)
Wagner	Precipitado café rojizo (+)
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Precipitado verde oscuro (+)
HNO <sub>3</sub>	----- (-)
Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Anillo verde (+)

##### 2) Prueba Específica:

Con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ..... Coloración violeta..... (+)

#### Técnicas Cromatográficas en Capa Fina

1) La mezcla de separación más apropiada resultó ser la de metanol-cloroformo (50:50) (v:v), en la que se observó una mejor separación y corrimiento de la banda de capsaicina; se observó, además, que la mayor concentración de capsaicina la presentaron los extractos bencénico y clorofórmico, dado que se observaba una mayor anchura de las -

bandas de capsaicina en dichas placas.

- 2) En la técnica Merck, el aislamiento e identificación de la capsaicina resultó más fácil, ya que la muestra se sembró a la par del patrón.

### Espectrografía Infrarroja

Los resultados obtenidos por espectrografía I.R., sirvieron para confirmar la presencia de capsaicina en la especie estudiada (Espectros 1 y 2 .

### Métodos Cuantitativos

#### Método Merck:

Este método se realizó cinco veces con resultados satisfactorios. Para cada valoración se trazó una curva de contraste. (Tablas 1 y 2). (Gráfico 1).

#### Método del Vanadato de Amonio

##### a) Por colorimetría visual:

En este caso, la colorimetría visual no dió buen resultado, ya que los patrones presentaban un color igual al del blanco, lo que indicaba que estaban muy diluídos.

##### b) Por Espectrofotometría:

Aquí los resultados no fueron satisfactorios, debido a que los patrones no dieron lecturas; no obstante haber utilizado los rangos que indicaba el método.

### Modificaciones al Método del Vanadato de Amonio

#### Patrones Modificados

- 1) En la primera modificación a los patrones, los resultados fueron - también negativos; estaban muy diluídos, por lo tanto, el aparato no

los detectó.

- 2) En la segunda modificación, solamente se pudo leer el patrón de 20 mg%, ya que los otros estaban muy concentrados.
- 3) Con los patrones modificados, por tercera vez, se obtuvieron los mejores resultados. A ellos se les podía aplicar colorimetría visual, pero se leyeron en el espectrofotómetro por ser éste de mayor confiabilidad. (Tabla 4).
- 4) El último patrón que se preparó no se pudo leer, por lo que se tomó como límite máximo el de 30 mg% (0.03%).

#### Muestras Modificadas

- 1) Con la primera modificación no se obtuvieron resultados satisfactorios; solamente con la de 1.0 g (rango máximo detectable), el resultado fue positivo.
- 2) En la segunda modificación, los resultados fueron satisfactorios para las muestras de 1.0 g y 0.8 g. Con esto se logró establecer el rango máximo detectable por el aparato.
- 3) En la tercera modificación las muestras de 0.9 g, 0.8 g, 0.7g, 0.6g, 0.5g, 0.4g, 0.3g, 0.2g, 0.1g y 0.05g, fueron leídas por el aparato; pero las de 0.04g y 0.03 g no las detectó. Con esta prueba se obtuvo el rango mínimo detectable por el espectrofotómetro.
- 4) La cuarta modificación fue la correcta. Este proceso se realizó siete veces y los valores obtenidos, en cada caso, nos confirmaron la eficacia del método (Tablas 3 y 5). (Gráfico 2).

T A B L A 1

M E T O D O M E R C K

SOLUCIONES	Cantidad inyectada (en microgramos)	LECTURAS EN ESPECTROFOTOMETRO A 730 NM				
		1a. Serie	2a. Serie	3a. Serie	4a. Serie	5a. Serie
PATRONES	0.2	0.027 NM	0.025 NM	0.032 NM	0.011 NM	0.014 NM
	0.7	0.040 NM	0.052 NM	0.066 NM	0.022 NM	0.024 NM
	1.2	0.058 NM	0.115 NM	0.144 NM	0.076 NM	0.068 NM
MUESTRAS	1.0	0.012 NM	0.020 NM	0.021 NM	0.017 NM	0.020 NM
	1.0	0.014 NM	0.020 NM	0.019 NM	0.019 NM	0.020 NM
$\bar{P}$ MUESTRAS		0.013 NM	0.020 NM	0.020 NM	0.018 NM	0.020 NM

T A B L A 2M E T O D O M E R C K

SERIE	CONCENTRACION EN MUESTRA. OBTENIDA POR INTERPOLACION EN GRAFICA. (Microgramos)	G. DE CAPSAICINA EN 100 G. DE CHILE %
1a.	0.225	0.225
2a.	0.210	0.210
3a.	0.165	0.165
4a.	0.335	0.335
5a.	0.390	0.390

SOLUCIONES	Cantidad de droga en Solución (g%) p/v	LECTURAS EN ESPECTROFOTOMETRO A 730 NM											
		1a.Serie	2a.Serie	3a.Serie	4a.Serie	5a.Serie	6a.Serie	7a.Serie	$\bar{P}$				
M D E S P A S	0.62	0.020	0.015	0.025	0.020	0.010	0.030	0.020	0.020	0.010	0.030	0.020	0.020
	1.25	0.075	0.095	0.070	0.085	0.080	0.065	0.085	0.085	0.080	0.065	0.090	0.080
	2.5	0.120	0.160	0.145	0.145	0.130	0.165	0.145	0.145	0.130	0.165	0.150	0.145
	3.75	0.205	0.240	0.275	0.250	0.215	0.290	0.275	0.250	0.215	0.290	0.275	0.250
	5.0	0.275	0.320	0.300	0.320	0.260	0.325	0.300	0.320	0.260	0.325	0.300	0.300
	6.25	0.320	0.340	0.360	0.350	0.350	0.410	0.360	0.350	0.350	0.410	0.390	0.360
	7.5	0.400	0.490	0.535	0.510	0.500	0.575	0.535	0.510	0.500	0.575	0.560	0.510
	8.75	0.525	0.650	0.680	0.665	0.535	0.700	0.680	0.665	0.535	0.700	0.700	0.665
	10.0	0.750	0.800	0.825	0.790	0.850	1.000	0.825	0.790	0.850	1.000	0.835	0.850
	11.25	1.200	1.385	1.440	1.495	1.410	1.600	1.440	1.495	1.410	1.600	1.550	1.440
	12.5	1.990	1.995	2.000	2.000	1.995	2.000	2.000	2.000	1.995	2.000	2.000	2.000

TABLA 4                      METODO DEL VANADATO DE AMONIO

Soluciones	Cantidad de Droga en Solución (g%) p/v	Lecturas a 730 nm
P A T R O N E S	0.005	0.075
	0.010	0.215
	0.015	0.385
	0.020	0.490
	0.030	0.950

TABLA 5                      METODO DEL VANADATO DE AMONIO

Soluciones	Cantidad de Droga en Solución (g%) p/v	Lectura $\bar{P}$ a 730 nm	Valor Gráfico G. de Capsaicina en 100 ml. de solu- ción. (%) v/v.	G.de Capsaicina en 100 g. de Droga (%) p/p
M U E S T R A S	0.62	0.02	0.001	0.16
	1.25	0.08	0.003	0.24
	2.5	0.145	0.0055	0.22
	3.75	0.25	0.0095	0.25
	5.0	0.3	0.0115	0.23
	6.25	0.36	0.0135	0.22
	7.5	0.51	0.019	0.25
	8.75	0.665	0.025	0.29
	10.0	0.85	0.032	0.32
	11.25	1.44	0.0545	0.48
12.5	2.	0.075	0.60	
$\Sigma$				2.02 ÷ 8
$\bar{P}$				0.2525

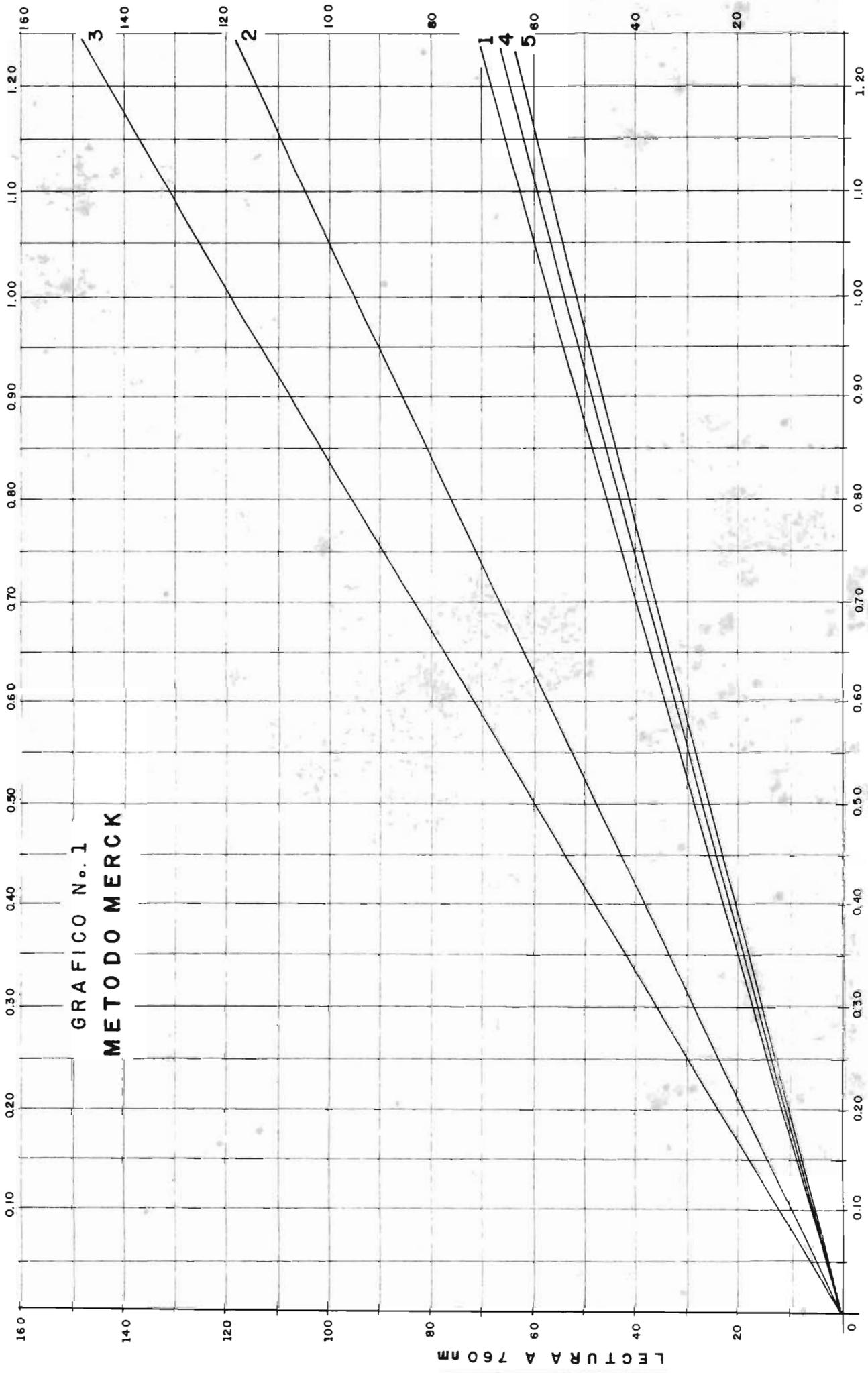


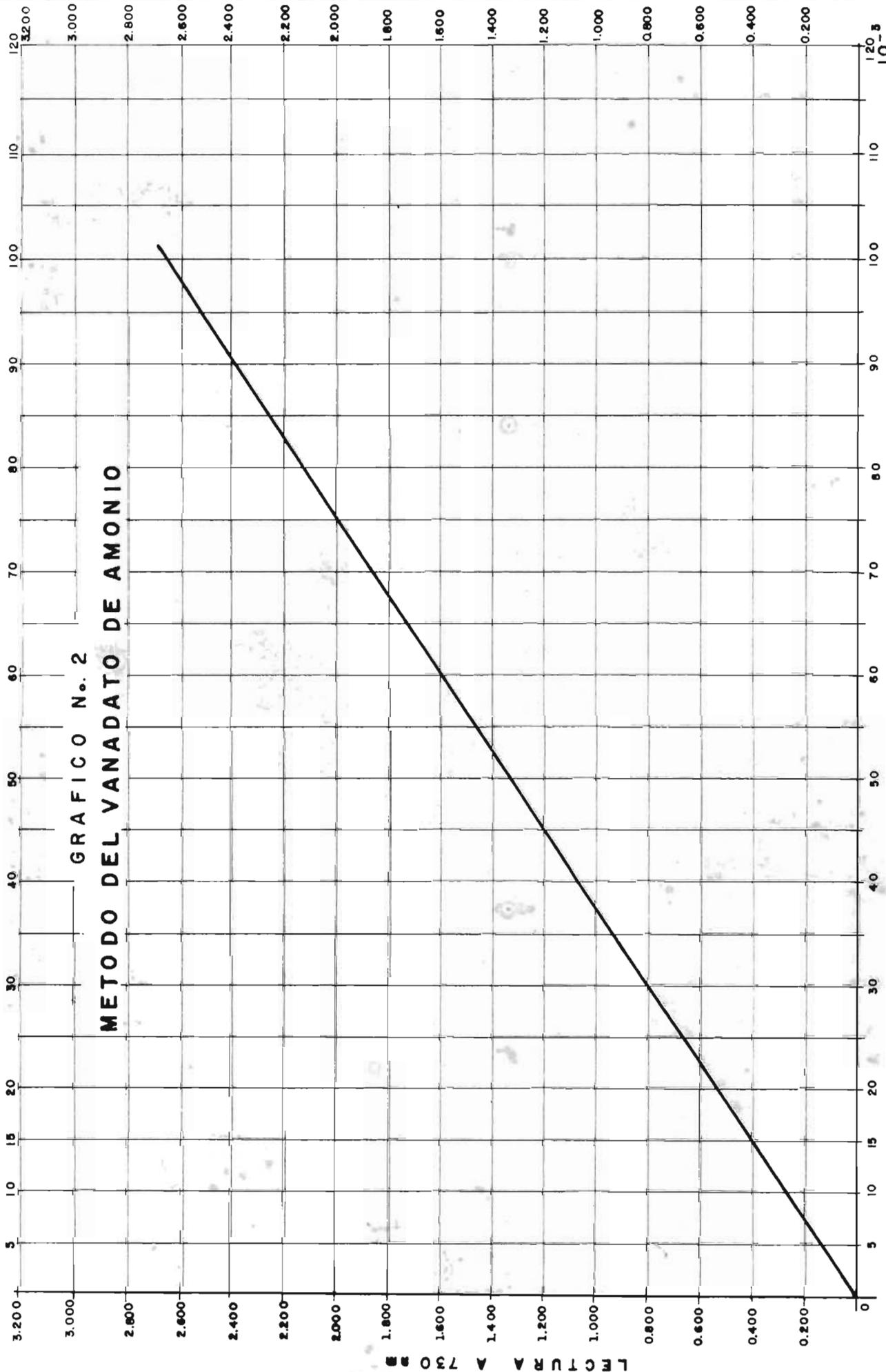
GRAFICO N.º 1  
METODO MERCK

[μg]

LECTURA A 760 mμ

# METODO DEL VANADATO DE AMONIO

GRAFICO No. 2



LECTURA A 730 mμ



- 1) -OH AROMÁTICO ( $\delta$ )
- 2) N-H
- 3) C-H AROMÁTICOS
- 4) C-H ALIFÁTICOS
- 5)  $\begin{matrix} \text{H} \\ | \\ \text{N} \\ | \\ \text{H} \end{matrix}$
- 6) N-H
- 7)  $\begin{matrix} \text{CH}_3 \\ | \\ \text{CH} \end{matrix}$
- 8) O-H AROMÁTICO ( $\delta$ )
- 9) C-H AROMÁTICO
- 10) ESQUELETO DEL ANILLO AROMÁTICO TRISUSTITUIDO
- 11) C=C-H (C=C)

MODEL 700

SPECTRUM NO. \_\_\_\_\_

SAMPLE 1 \_\_\_\_\_

SAMPLE 2 \_\_\_\_\_

PURITY \_\_\_\_\_

PHASE LIQUIDA \_\_\_\_\_

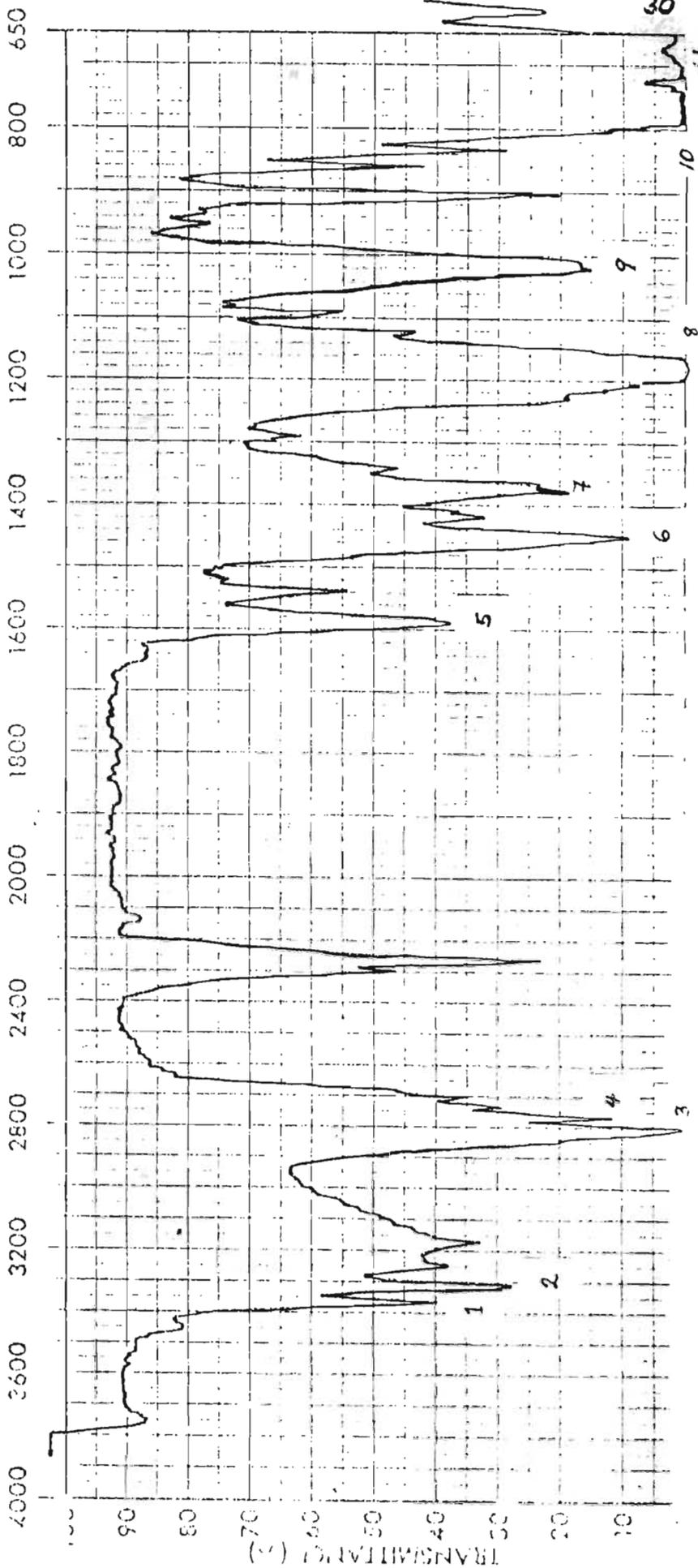
CONCENTRATION \_\_\_\_\_

THICKNESS NaCl (Pastilla) \_\_\_\_\_

DATE Octubre 16-75

OPERATOR Salvador Castillo

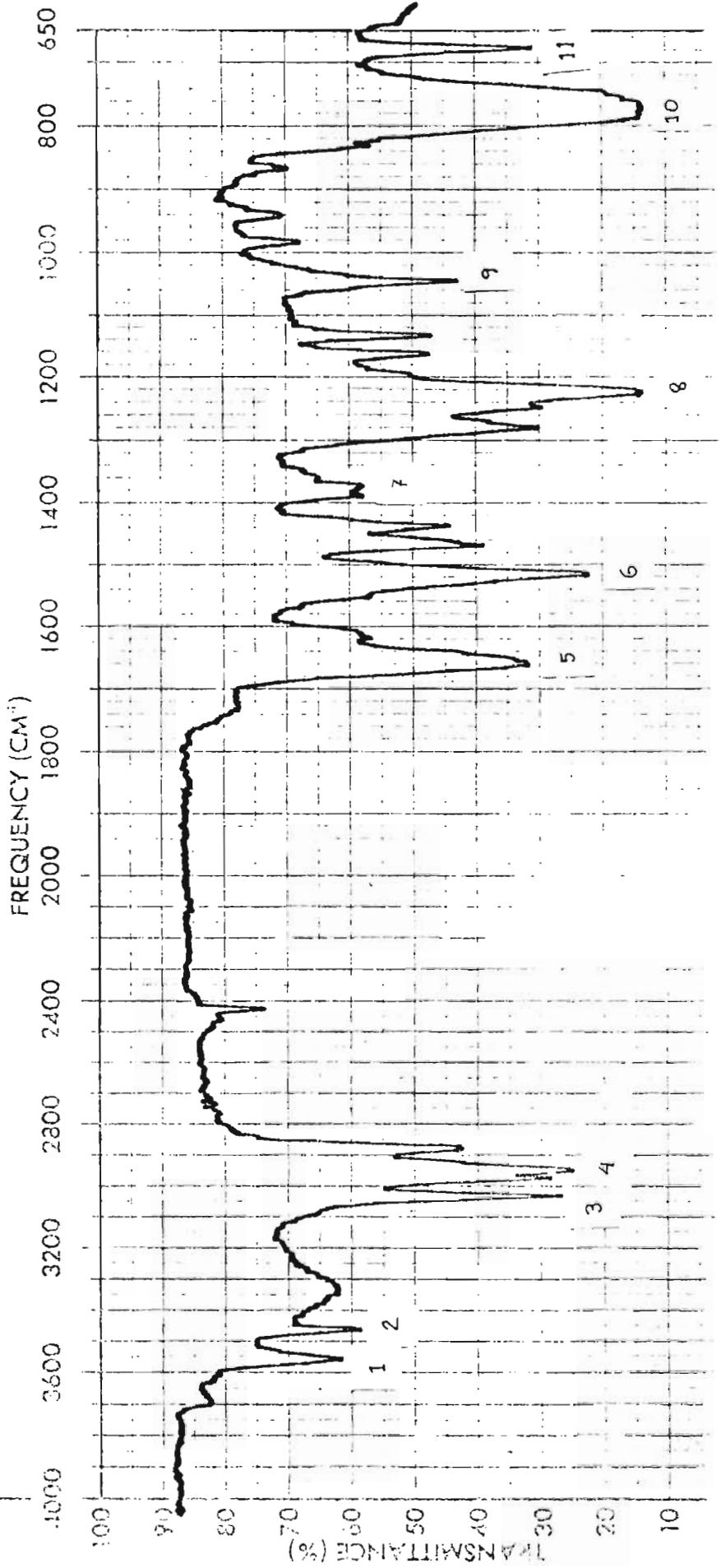
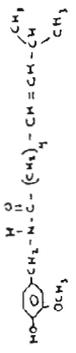
FREQUENCY (CM<sup>-1</sup>)



**PERKIN-ELMER IR**  
MODEL 700

ORIGIN EXTRACTO CLOROFORMICO DE CAP-  
SAICINA  
(CHILE ESPEULA DE GALLO)  
PURITY \_\_\_\_\_  
PHASE LIQUIDA  
CONCENTRATION \_\_\_\_\_  
THICKNESS NaCl (PASTILLA)  
DATE OCTUBRE 16 - 1975  
OPERATOR MARIA ARACELY CUBIAS S.

- 1) -OH AROMÁTICO (ν)
- 2) N-H
- 3) C-H AROMÁTICOS
- 4) C-H ALIFÁTICOS
- 5) H-O
- 6) N-O
- 7) C-H >C=
- 8) O-H AROMÁTICO (δ)
- 9) C-H AROMÁTICO
- 10) ESQUELETO DEL ANILLO AROMÁTICO TRISUSTITUIDO
- 11) CH=CH - (cis)



CONCLUSIONES

- 1) La especie Capsicum annum var. conoides contiene 0.25% de capsaicina.
- 2) El mejor método para cuantificar la capsaicina fue el del Vanadato de Amonio.
- 3) Se comprobó, por medio del registrador automático del espectrofotómetro, que la mayor absorción de capsaicina, se presentó a una longitud de onda de 730 nm.
- 4) La cuantificación por el método Merck, tiene la desventaja de que el proceso cromatográfico es tardado y durante ese tiempo se pierde capsaicina, ya que ésta es volátil; además, los porcentajes que resultan, entre una y otra serie de lecturas, son bastante distantes, por lo que no fue factible obtener un valor promedio de ellos. A esto hay que agregar otra variante, que era la cantidad diferente de sílica gel para cada caso, lo cual, posiblemente, interfería en el volumen y, en consecuencia, en la cuantificación.

B I B L I O G R A F I A

- 1) Büchi, J. und Hippenmeier, F. Zur Wethestimmung von Rein Capsai--  
cin-Haltigen Drogen und Präparaten.- Pharmaceutica Acta Helvetiae.  
Zürich, 23: 327 y 353, 1948.
- 2) Calderón, S. y Standley, P.C. Lista Preliminar de las Plantas de -  
El Salvador, 2a. Ed. Ediciones Culturales de la Universidad de El  
Salvador. 1944.
- 3) Csedő, K., Koop, E. Studien über die in der Theorie Verwendbaren  
Paprikasorten. Pharmazie. 19: 541, 544, 1964.
- 4) Dominguez, J.A. Métodos de Investigación Fitoquímica. México, RTCA/  
AID, Limusa. 217-218, 1973.
- 5) Guzmán, David J.: Especies Útiles de la Flora Salvadoreña, 2a. Ed.  
358, 1950.
- 6) Hoppe, H.A. - "Drogenkunde". Cram, de Gruyter & Co. Hamburgo, 1958.
- 7) Italia. Ministero Della Sanita. Farmacopea Ufficiale Della Repúbli-  
ca Italiana. Roma V2. P.253, 1972.
- 8) Lagos, J.A. Compendio de Botánica Sistemática. San Salvador. Casa -  
Impresora Martínez. P.210, 1973.
- 9) Merck. Capsaicina. Art. 2179.
- 10) Merck. Información sobre Cromatografía en Capa Fina. V: Colorime---  
tría de Capsaicina en la Pimienta de Cayena.
- 11) Merck. Uvasol. Disolventes para Espectroscopía. Darmstadt, Alema--  
nia, p. 52-53.

...

- 12) Molnar, J.: Die Pharmakologischen Wirkungen des Capsaicins, des Scharf Schmeckenden Wirkstoffes im Paprika. *Arzneimittel - Forsch.* 15 (7): - 718-726, 1965.
- 13) Morrison and Boyd. *Organic Chemistry*. Allyn and Bacon, Inc; Boston. Second edition. p. 452, 606 y 690. 1966.
- 14) Nakanishi, Koji. *Infrared Absortion Spectroscopy Practical*. Holden - Day, Inc.; San Francisco, and Nankodo Company Limited. Tokyo. p. 20, 24, 27 y 167. 1962.
- 15) Raffauf, R.F. *A Handbook of Alkaloid. Containing Plants*. N.Y. Wiley Interscience, 1970.