

Electrochemical Determination of Various Alkaloids Using Carbon Paste Electrodes (Elektrochemické stanovení různých alkaloidů na uhlíkových pastových elektrodách)

Tomáš Mikysek, Kateřina Kolesíková, Kamila Rosecká, and Ivan Švancara
University of Pardubice, Faculty of Chemical Technology, Department of Analytical
Chemistry, Studentská 573, 53210 Pardubice, Czech Republic,
E-mail: Tomas.Mikysek@upce.cz

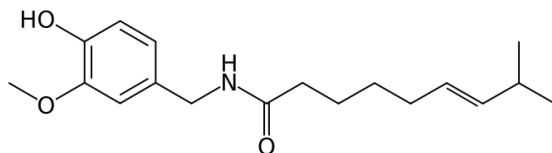
Abstract

This contribution describes an electrochemical behaviour of selected natural alkaloids (myristicin and capsaicin) offers a methods for their determination. Both of them undergo the oxidation showing one irreversible process involving two electrons. The influence of various electrolytes as well as pH dependence is described herein. The problems connected with adsorption (extraction) of the alkaloid on (into) the electrode material are also discussed.

Key-words: carbon paste electrode, capsaicin, myristicin, voltammetry.

Úvod

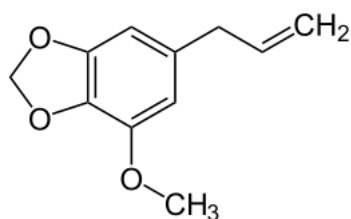
Kapsaicin a jeho deriváty se nacházejí v pálivých paprikách a chilli papričkách rodu *Capsicum* a jsou příčinou oblíbené palčivé chuti. Tyto deriváty známé jako kapsaicinoidy patří mezi fenylalkylamidové alkaloidy. Ze všech 11 zástupců představují majoritní část kapsaicinu (obr. 1) a dihydrokapsaicin, které působí okolo 90% pálivosti a jejich molekuly se liší pouze nasyceností v acylové skupině. Kapsaicinoidy vyvolávají intenzivní dráždění při styku se sliznicemi, vážou se na tzv. nociceptory, kterými lidské tělo vnímá bolest ¹. Mají také řadu pozitivních účinků, podporují krevní cirkulaci, zvyšují rychlost metabolismu, podporují zažívání a pomáhají při léčení různých nemocí. K nejčastějším metodám stanovení kapsaicinoidů HPLC ², GC ³, kapilární elektroforéza ⁴, micelární elektrokinetická kapilární chromatografie ⁵, kolorimetrie ⁶, spektrofotometrie ⁷ nebo chromatografie na tenké vrstvě s in-situ denzitometrií ⁸.



Obr. 1. Struktura kapsaicinu

Myristicin (obr.2) je hlavní složkou muškátového oříšku ze stromu muškátovníku pravého. Je obsažen v esenciálním oleji muškátového oříšku a květech (červený voskový obal oříšku), dále je v malém množství v petrželi a kopru. Myristicin je antagonist receptoru serotoninu a má halucinogenní účinky. V lidských buňkách působí neurotoxicky. Otrava může vést k mnoha zdravotním problémům, jako jsou křeče, bušení srdce, nevolnost, případně dehydratace a také vyvolává tělesnou bolest ^{9,10}.

K metodám používaným ke stanovení myristicinu patří nečastěji separační techniky často ve spojení s hmotnostní spektrometrií (HPLC, GC-MS, a HPTLC. Alternativou k těmto metodám by mohly být elektrochemické metody díky nízkým nákladům na analýzu a vysoké citlivosti ¹¹.



Obr. 2. Struktura myristicinu.

V tomto příspěvku jsou prezentovány možnosti stanovení dvou vybraných alkaloidů, tedy kapsaicinu a myristicinu, na uhlíkových pastových elektrodách. Výsledky popisují chování výše uvedených látek v různých typech základních elektrolytů a zároveň základní optimalizaci experimentálních podmínek pro jejich stanovení.

Experimentální část

Chemikálie. Myristicin – 3-methoxy,4,5-methylenedioxy-allylbenzen (Sigma-Aldrich, Česká republika), standardní roztok byl připraven rozpuštěním 11,4 mg myristicinu v 10 ml ethanolu. Kapsaicin – (E)-N-(4-hydroxy-3-methoxybenzyl)-8-methylnon-6-enamid (Sigma-Aldrich, Česká republika), standardní roztok byl připraven rozpuštěním 10 mg kapsaicinu v 10 ml ethanolu. Pro přípravu 0,1 mol/l roztoků základních elektrolytů (HCl, HClO₄, H₂SO₄, KCl, acetátový, fosfátový a borátový pufr a NaOH) a k přípravě série Britton-Robinsonových pufrů bylo použito běžných laboratorních chemikálií. Všechny potřebné roztoky byly připraveny z deionizované vody pomocí systému Milli-Q od firmy Millipore.

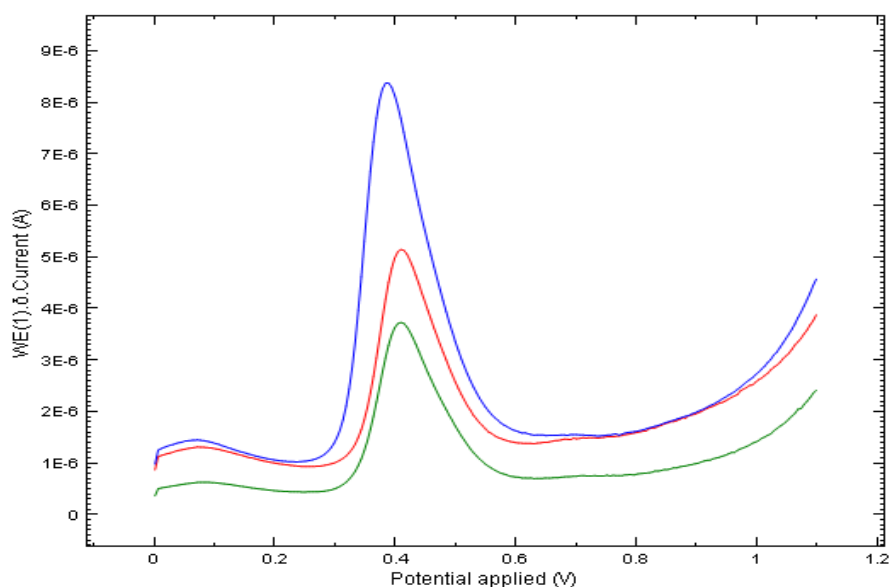
Instrumentace. Všechna elektrochemická měření byla prováděna na přístroji AUTOLAB (model "PGSTAT-128N; Metrohm - Autolab B.V., Utrecht, Nizozemí), ke kterému byla připojena měřicí cela s tří-elektrodovým systémem obsahujícím uhlíkovou pastovou elektrodu z uhlíkového prášku „CR-5” (Maziva Týn, CZ) a parafinového oleje (Merck; CZ) a pro srovnávací měření elektrodu ze skelného uhlíku dále pak referentní elektrodu Ag/AgCl a pomocnou elektrodu (Pt).

Výsledky a diskuse

V této práci bylo studováno jak elektrochemické chování myristicinu tak i kapsaicinu v různých elektrolytech na různých typech uhlíkových elektrod. Z cyklické voltametrie bylo zjištěno, že k oxidaci myristicinu dochází při potenciálu cca +1,1 V. Tato oxidace je ireverzibilní a s největší pravděpodobností dvoelektronová. U kapsaicinu dochází k oxidaci o něco dříve a to u potenciálu cca +0,4 V a i zde je tato oxidace ireverzibilní při všech rychlostech polarizace. V dalších experimentech týkajících se výběru základního elektrolytu, bylo zjištěno, že oba alkaloidy jsou elektroaktivní ve všech studovaných elektrolytech (viz. experimentální část). V úvodních experimentech se ukázalo, že lipofilní charakter obou látek hraje významnou roli při optimalizaci jejich stanovení. U myristicinu dochází k jeho extrakci do uhlíkové pasty a při opakovaných měřeních pozorujeme nárůst signálu, proto bylo testováno zařazení kondicionačního kroku. Toto řešení pomohlo jen částečně a bylo nutné přikročit k obnově povrchu před každým měřením. V případě kapsaicinu by se dalo předpokládat, vzhledem k dlouhému alkylovému řetězci v jeho struktuře, podobné chování jako u myristicinu, avšak zde s opakovaným měřením docházelo k poklesu signálu, což je patrně způsobeno blokováním povrchu elektrody produkty oxidace. Tento problém se podařilo vyřešit zařazením kondicionačního kroku s vloženým potenciálem +0,2 V vs. ref. po dobu 120 s. Dalším cílem byla snaha rozlišit jednotlivé kapsaicinoidy, které se liší svou strukturou jen nepatrně (viz. úvod). Jak je vidět na obrázku 3, oba hlavní zástupci, v podobě kapsaicinu a dihydrokapsaicinu,

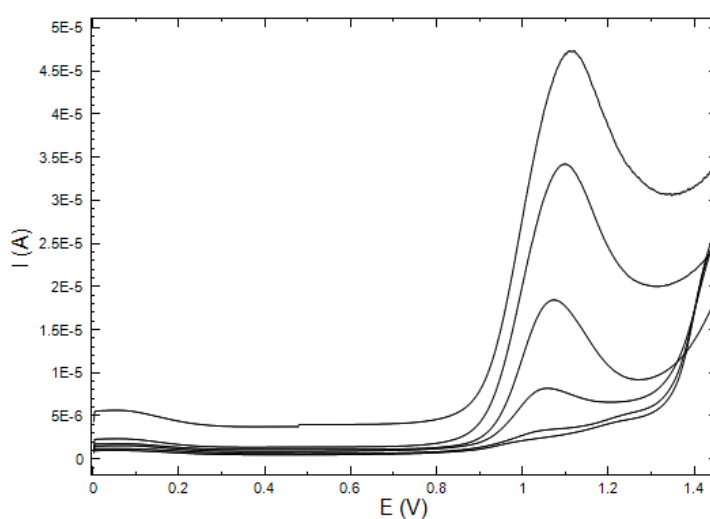
podléhají oxidaci při stejném potenciálu a nelze je elektrochemicky rozlišit ani volbou podmínek měření. Na stejném obrázku je i křivka tzv. přírodního kapsaicinu, který je dodáván firmou Sigma Aldrich a jeho složení je 60% kapsaicin a 40% dihydrokapsaicin.

Při měření závislosti signálu na pH pomocí série Britton robinsonových pufrů bylo zjištěno, že oba alkaloidy poskytují signál v celém rozsahu pH. Nejvyšší a zároveň nejstabilnější odezva byla zjištěna u pufru o pH 7 pro myristicin a 7,8 pro kapsaicin, který byl použit i pro další měření.



Obr. 3. Voltamogram kapsaicinu (červená), dihydrokapsaicinu (modrá), přírodního kapsaicinu (zelená), koncentrace 1 mg/l, CPE; B-R pufr pH 7,8.

Dalším krokem ke stanovení bylo sestavení příslušných kalibračních křivek, které byly, spolu s metodou vícenásobného standardního přidavku, použity k vyhodnocení analýz modelových a reálných vzorků.



Obr. 4. Kalibrační řada myristicinu v B-R pufru o koncentraci 1 až 84 mg/l. Další podmínky viz. experimentální část.

Závěr

Tato práce se zabývá problematikou stanovení dvou rostlinných alkaloidů tj. myristicinu a kapsaicinu, a zároveň popisem jejich elektrochemického chování. Myristicin se oxiduje dvěma elektrony, a poskytuje ireverzibilní elektrodovou reakci při potenciálu cca +1,1 V. V důsledku jeho lipofilního charakteru dochází ke značné extrakci této látky do elektrodového materiálu, kterým je uhlíková pasta, což se projevuje nárůstem signálu při opakovaném měření. Tento problém nelze odstranit ani při použití elektrody ze skelného uhlíku, kde pro změnu dochází k adsorpci této látky na povrch elektrody a nelze ji odstranit ani zařazením kondicionačního kroku, proto je nutné přistoupit k obnově povrchu před každým měřením. U kapsaicinu dochází k opačnému jevu a to k poklesu signálu s opakovaným měřením. Tento problém lze vyřešit pomocí výše uvedeného kondicionačního kroku. Pro vlastní stanovení se pro obě látky jeví jako nevhodnější elektrolyt Britton-robinsonův pufr v neutrální oblasti pH. Obě optimalizované metody jsou vhodné ke stanovení výše uvedených alkaloidů.

Literatura

1. Caterina M. J., Schumacher M. A., Tominaga M., Rosen T. A., Levine J. D. and Julius D.: *Nature* 389, 816 (1997).
2. Choi S. H., Suh B. S., Kozukue E., Kozukue N., Levin C. E., Friedman M.: *J. Agric. Food Chem.* 54, 9024 (2006).
3. Pena-Alvarez A., Ramirez-Maya E., Alvarado-Suarez L. A.: *J. Chromatogr. A* 1216, 2843 (2009).
4. Liu L., Chen X., Liu J., Deng X., Duan W., Tan S.: *Food Chem.* 119, 1228 (2010).
5. Laskaridou-Monnerville A.: *J. Chromatogr. A* 838, 293 (1999).
6. Gibbs H.A.A., O'Garro L.W.: *Hort Science* 39, 132 (2004).
7. Perucka I., Oleszek W., *Food Chem.* 71, 287 (2000).
8. Monforte-Gonzalez M., Medina-Lara F.: *J. Liq. Chromatogr. Related Technol.* 30, 1697 (2007).
9. Lee BK, Kim JH, Jung JW, Choi JW, Han ES, Lee SH, Ko KH, JH. R.: *Toxicology Letters* 157, 49 (2005).
10. Andrzej L. Dawidowicz, Dybowski M.P.: *Food and Chemical Toxicology* 50, 2362 (2012).
11. Rosecká K., Mikysek T., Švancara I.: *Monitorování látek v životním prostředí, svazek XVI* (Ovčárna pod Pradědem, 9. – 11. 4. 2014) Sborník příspěvků ze semináře (P. Česla, J. Fischer, K. Vytřas, eds.), str. 79 – 85.