

การศึกษาปริมาณแคปไซซิน และแคโรทีนอยด์ในผลของพริก
ที่ปลูกในประเทศไทย



นายวัชรินทร์ บุญมานพ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเกษตรศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาเกษตรศาสตร์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2537

ISBN 974-584-404-7

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I14194921

STUDIES ON CAPSAICIN AND CAROTENOID CONTENTS IN
CAPSICUM CULTIVARS IN THAILAND

Mr. Vaivat Boonyamanop

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Pharmacy

Department of Pharmacognosy

Graduate School

Chulalongkorn University

1994

ISBN 974-584-404-7



วิทยวรรณ บุนนยะมานพ : การศึกษาปริมาณแคปไซซิน และแคโรทีนอยด์ในผลของพริกที่ปลูกในประเทศไทย (STUDIES ON CAPSAICIN AND CAROTENOID CONTENTS IN CAPSICUM CULTIVARS IN THAILAND) อ.ที่ปรึกษา : ผศ.ดร.วันชัย ดีเอ็กนามกุล, 80 หน้า. ISBN 974-584-404-7

สารสำคัญ 2 ชนิดที่มีอยู่ในผลพริก (*Capsicum* spp. วงศ์ Solanaceae) ที่สามารถบ่งบอกถึงคุณภาพของพริกที่ใช้เป็นสิ่งปรุงแต่งอาหาร คือ capsaicin (สารที่ให้รสเผ็ดร้อน) และ carotenoids (สารให้สี) ในการประเมินคุณภาพของผลพริกที่ปลูกในประเทศไทย ได้มีการพัฒนาเทคนิคของ HPLC เพื่อตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ capsaicin และเทคนิคของ visible spectrophotometry เพื่อตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ carotenoids ในการวิเคราะห์ปริมาณ capsaicin นั้น เริ่มจากการสกัดผงพริกโดยใช้วิธีการสกัดโดยใช้คลื่นเสียง (sonication) และทำให้สารสกัดหายาบริสุทธิ์ขึ้นโดยเทคนิคของ Solid-phase extraction และทำการวิเคราะห์โดย HPLC ตัวอย่างผลพริกที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ประกอบด้วยพริกทั้งสองพันธุ์ของ *Capsicum* spp. คือ *C.frutescens* และ *C.annuum* ซึ่งเก็บมาจากแหล่งต่างๆที่ปลูกในทุกภาคของประเทศไทย ผลการทดลองที่ได้พบว่า *C.frutescens* ให้ปริมาณ capsaicin อยู่ในช่วง 0.47-0.79% ต่อน้ำหนักแห้ง ส่วน *C.annuum* พบว่าปริมาณ capsaicin อยู่ในช่วง 0.00-0.53% ต่อน้ำหนักแห้ง สำหรับปริมาณ carotenoids ที่วัดโดย visible spectrophotometry นั้นพบว่า *C.frutescens* ให้ปริมาณ carotenoids อยู่ในช่วง 0.23-0.48% ต่อน้ำหนักแห้ง ส่วน *C.annuum* พบว่าปริมาณ carotenoids อยู่ในช่วง 0.06-0.55% ต่อน้ำหนักแห้ง วิทยานิพนธ์นี้เป็นปริญญานิพนธ์ที่ศึกษาเกี่ยวกับปริมาณของสารสำคัญทั้งสองชนิดนี้ในผลพริกที่ปลูกในประเทศไทย ซึ่งจากข้อมูลที่ได้สามารถนำมาสรุปและนำไปใช้ในการคัดเลือกพริกที่มีคุณภาพดีตรงตามความต้องการของตลาดได้

ภาควิชา เกษศาสตร์
สาขาวิชา เกษศาสตร์
ปีการศึกษา 2536

ลายมือชื่อผู้นิสิต
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

C475251 : MAJOR PHARMACOGNOSY

KEY WORD: CAPSICUM SPECIES/ CAPSAICIN/ CAROTENOIDS

VAIVAT BOONYAMANOP : STUDIES ON CAPSAICIN AND CAROTENOID CONTENTS IN CAPSICUM CULTIVARS IN THAILAND. THESIS ADVISOR : ASSIS.PROF. WANCHAI DE-EKNAMKUL, Ph.D. 80 pp. ISBN 974-584-404-7

In order to evaluate the quality of Thai capsicum fruit (*Capsicum* spp., family Solanaceae), we developed a HPLC method for determination of capsaicin which is a major pungent component and a simple visible spectrophotometric method for determination of carotenoids which is a colorant in capsicum fruit. To determine the capsaicin contents, sonication was developed for capsaicin extraction which was more convenient than the other methods. To purify the crude capsicum extract, solid-phase extraction technique was developed as sample preparation process which was checked for its efficiency and recovery. The last step was to set up the HPLC conditions of capsaicinoid separation for routine analysis. The sample of capsicum fruit comprised of two *Capsicum* spp., *C.frutescens* and *C.annuum* which were collected from many provinces covering all region of Thailand. The results showed that *C.frutescens* gave the capsaicin content in the range 0.47-0.79% per dry fruit weight and *C.annuum* gave the capsaicin content in the range 0.00-0.53% per dry fruit weight. For carotenoid determination by visible spectrophotometric method, it was found that *C.frutescens* gave the carotenoid content in the range 0.23-0.48% per dry fruit weight and *C.annuum* gave the carotenoid content in the range 0.06-0.55% per dry fruit weight. Apparently, this is the first report of studying about these two important substances in capsicum cultivars in Thailand which is useful to select the good capsicum cultivars which is suitable for the demand of market and trade.

ภาควิชา _____ เภสัชเวท _____

สาขาวิชา _____

ปีการศึกษา _____ 2536 _____

ลายมือชื่อนิสิต _____

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา _____

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม _____



ACKNOWLEDGEMENTS

The author wishes to express his deepest appreciation and grateful thanks to his advisor, Assistant Professor Dr.Wanchai De-Eknamkul of the Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, for his helpful guidances, suggestion, keen interest and continual encouragements throughout the course of this work

The author would like to acknowledge his grateful thanks to Associate Professor Nijsiri Ruangrunsi, Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, for his helpful suggestions.

The author would also like to thank the Samutprakarn Hospital for the provision of partial financial support.

Finally,the author wishes to thanks all the staff members of the Department of Pharmacognosy and the R&D Unit for Herbs and Spices, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University for their kindness and helps.



CONTENTS

	Page
THAI ABSTRACT.....	iv
ENGLISH ABSTRACT.....	v
ACKNOWLEDGEMENTS.....	vi
CONTENTS.....	vii
LIST OF TABLES.....	ix
LIST OF FIGURES.....	xi
ABBREVIATIONS.....	xiii
CHAPTER	
I INTRODUCTION	1
II HISTORICAL	3
1. Botanical Aspect of <i>Capsicum</i> spp.....	3
2. Microscopy of Capsicum Fruit.....	6
3. The Uses of Capsicum.....	10
4. Chemical Constituents of Capsicum.....	12
5. Capsaicin.....	12
5.1 Structure and Some Chemical Properties.....	12
5.2 Biological Activities of Capsaicin.....	14
5.3 Extraction and Purification.....	17
5.4 Determination.....	17
5.5 The Proposed Biosynthetic Pathways of Capsaicin.....	18
6. Carotenoids of Capsicum.....	20
6.1 Composition of Capsicum Carotenoids.....	20
6.2 Biological Activities of Carotenoids.....	20
6.3 Extraction and Purification of Capsicum Carotenoids.....	22
6.4 Determination of Capsicum Carotenoids.....	23
6.5 The Proposed Biosynthetic Pathway of Carotenoids.....	23
7. Introduction to Solid-Phase Extraction Technique.....	27
III MATERIALS AND METHODS	29
1. Quantitative Analysis of Capsaicin in <i>Capsicum</i> spp.....	29

	Page
1.1 Plant Materials	29
1.2 Reagents, Standards and Apparatus.....	30
1.3 Sample Preparation by Solid-Phase Extraction	32
1.4 HPLC Conditions for Capsaicinoid Separation	33
2. Quantitative Analysis of Total Capsicum Carotenoids.....	33
2.1 Plant Materials	33
2.2 Reagents, Standards and Apparatus.....	33
2.3 Sample Preparation.....	34
2.4 Visible Spectrophotometric Analysis.....	34
IV RESULTS	35
1. Development of An Analytical Method for Capsaicin Content in Capsicum	35
1.1 Capsaicin Extraction from Capsicum fruits.....	35
1.2 Cleaning of Capsaicin Crude Extracts by Solid-Phase Extraction.....	39
1.3 Separation of Capsaicinoids in Capsicum Extract by HPLC.....	43
1.4 The Efficiency of Sample Preparation by Solid-Phase Extraction.....	44
1.5 Calibration Curve of Standard Capsaicin by HPLC.....	47
2. Capsaicin Content in <i>Capsicum</i> spp.....	48
2.1 Variation of Capsaicin Content in Various Capsicum Cultivars.....	48
2.2 Capsicum Fruits Containing High Capsaicin Content.....	52
3. Carotenoids in <i>Capsicum</i> spp.....	56
3.1 HPLC Separation of Carotenoid in Capsicum Fruits.....	56
3.2 Calibration Curve of Standard β -Carotene by Visible Spectrophotometry.....	56
3.3 Variation of Carotenoid Content in Various Capsicum Cultivars.....	58
3.3 Capsicum Fruit Containing High Carotenoids Content.....	62
V DISSCUSION	66
CONCLUSION.....	72
REFERENCES.....	74
VITA.....	80

LIST OF TABLES

Table	Page
1 Cultivars of Capsicum Important to the Food Industry.....	11
2 Acyl Moieties of Capsaicinoids.....	13
3 The Carotenoid Composition in Red Riped Fruit of Capsicum.....	21
4 Comparison Among Three Different Extraction Methods Used for the Determination of Capsaicin in Five Varieties of Capsicum Fruits.....	38
5 The Effect of Different Eluents on the Elution of Capsaicin out of the Octadecylsilane Column.....	42
6 The Recovery of Capsaicin in Sample Preparation Process by Solid-phase Extraction Technique of Five Different Varieties of Capsicum Fruits.....	45
7 The Source, Mean of Fruit Weights and Capsaicin Contents in Capsicum Cultivars in Thailand.....	49
8 The Top Two High Percentage of Capsaicin in <i>Capsicum annuum</i>	53
9 The Top Two High Percentage of Capsaicin in <i>Capsicum frutescens</i>	53
10 The Top Two High Total Capsaicin in one Fruit of <i>Capsicum frutescens</i>	55
11 The Top Two High Total Capsaicin in one Fruit of <i>Capsicum annuum</i>	55
12 The Source, Mean of Fruit Weights and Carotenoid Contents in Capsicum Cultivars in Thailand.....	60
13 The Top Three High Percentage of Carotenoids in <i>Capsicum annuum</i>	63
14 The Top Two High Percentage of Carotenoids in <i>Capsicum frutescens</i>	63
15 The Top Two High Total Carotenoids in one Fruit of <i>Capsicum frutescens</i>	64
16 The Top Three High Total Carotenoids Content of <i>Capsicum annuum</i>	65
17 The Suitable Capsicum Cultivars for Colorants and Skin Protectants.....	70

Table	Page
18 The Suitable Capsicum Cultivars for Analgesic and Counter-irritant.....	70

LIST OF FIGURES

Figure		Page
1	<i>Capsicum frutescens</i> Linn.	4
2	<i>Capsicum annuum</i> Linn.	5
3	Transverse Section of Pericarp of Capsicum.....	7
4	Microscopy of Capsicum Powder.....	9
5	The Structure of Capsaicin.....	13
6	The General Structure of Capsaicinoids.....	13
7	The Absorption Spectrum of Capsaicin.....	15
8	Mass Spectrometry of Capsaicin.....	15
9	Biosynthetic Pathways of Capsaicin and Analogs.....	19
10	The Structures of Some Carotenoid Pigments in Capsicum.....	22
11	Pathway of Formation of Isopentenyl Pyrophosphate from Acetyl CoA.....	24
12	Pathway of Conversion of Isopentenyl Pyrophosphate to Geranylgeranyl Pyrophosphate.....	25
13	Pathway of Conversion of Phytoene into Lycoene.....	25
14	Possible Pathway of the Biosynthesis of Cryptocapsin, Capsanthin, Capsanthin 5,6-epoxide, and Capsorubin.....	26
15	The Basis of Solid-phase Extraction Technique.....	28
16	The Minicolumn for Solid-Phase Extraction (Adsorbex ^R).....	31
17	The Sample Preparation Apparatus (Adsorbex SPU ^R).....	31
18	Five Varieties of Capsicum Fruits Used for Studying the Suitable Method of Capsaicinoid Extraction.....	36

Figure	Page
19 HPLC Chromatograms of Standard Capsaicin and a Crude Extract	37
20 Bar Graph for the Comparison Among Three Different Extraction Methods..	38
21 The Absorption Spectra of Different Capsaicin Eluates Obtained from the Use of Different Solvents.....	41
22 HPLC Chromatograms of Standard Capsaicin with 99% Purity, Standard Capsaicin with 60% Purity and Capsicum Extract After Subjected to Solid-phase Extraction.....	43
23 The Five Varieties of Capsicum Fruits that Used for Checking the Recovery of Solid-phase Extraction.....	45
24 The Comparison of Capsaicin Contents in Five Varieties of Capsicum Fruits in Term of Linear Relation	46
25 Calibration Curve of Standard Capsaicin.....	47
26 The Variation in Shape and Size of Mature Capsicum.....	48
27 The Percentage of Capsaicin and Total Capsaicin In the Fruit of <i>Capsicum</i> Cultivars.....	50
28 The Linear Relation between the Percentage of Capsaicin in Capsicum Fruits and their Dry Weight in Semi-logarithmic Plotted Graph...51	51
29 The Distribution Graph of Percentage of Capsaicin in Capsicum Fruits.....	52
30 The Distribution Graph of Total Capsaicin in one Fruit of Capsicum Fruits.	54
31 HPLC Separation of Carotenoids	57
32 Calibration Curve of Standard β -carotene.....	58
33 The Variation of Carotenoids Contents (percent/dry weight) in Capsicum Cultivars in Thailand.....	59
34 The Percentage of Carotenoid and Total Carotenoid In the Fruit of <i>Capsicum</i> Cultivars.....	61
35 The Distribution Graph of Percentage of Carotenoid in Capsicum Fruits.....	62
36 The Distribution Graph of Total Carotenoid Content in Capsicum Fruits.....	64

ABBREVIATIONS

cm	=	centimeter
g	=	gram
GC	=	gas chromatography
HPLC	=	high performance liquid chromatography
hr	=	hour
kg	=	kilogram
l	=	liter
mg	=	milligram
ml	=	milliliter
min	=	minute
MW	=	molecgular weight
ng	=	nanogram
nm	=	nanometer
SD	=	standard deviation
uv	=	ultraviolet
wt	=	weight
°C	=	degree Celcius
μg	=	microgram
μl	=	microliter
%cv	=	percent coefficent of variation
λ_{\max}	=	maximum absorption wavelength