



УДК: 635.649.076:581.192]:615.272

Оригинален научен труд  
Original research paper

## ОДРЕДУВАЊЕ НА ВКУПНИ АНТИОКСИДАТИВНИ ОСОБИНИ НА КАПСАИЦИНОИДИ ВО *CAPSICUM* ВИДОВИ КУЛТИВИРАНИ ВО РЕПУБЛИКА МАКЕДОНИЈА

Викторија Максимова<sup>1</sup>, Лилјана Колева-Гудева<sup>2</sup>, Татјана  
Рушковска<sup>1</sup>, Рубин Гулабоски<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Факултет за медицински науки, Универзитет „Гоце Делчев“,  
Штип

[viktorija.maksmova@ugd.edu.mk](mailto:viktorija.maksmova@ugd.edu.mk), [tatjana.ruskovska@ugd.edu.mk](mailto:tatjana.ruskovska@ugd.edu.mk),  
[rubin.gulaboski@ugd.edu.mk](mailto:rubin.gulaboski@ugd.edu.mk)

<sup>2</sup> Земјоделски факултет, Универзитет „Гоце Делчев“, Штип  
[liljana.gudeva@ugd.edu.mk](mailto:liljana.gudeva@ugd.edu.mk), [rubin.gulaboski@ugd.edu.mk](mailto:rubin.gulaboski@ugd.edu.mk)

### Краток извадок

Капсаициноидите, кои се среќаваат исклучиво во родот *Capsicum*, фамилија *Solanaceae*, се група на алкалоиди кои според својата хемиска структура припаѓаат на фенилетиламинската група на алкалоиди. Меѓу нив капсаициноидот зафаќа до 69%, за разлика од другите капсаициноиди во пиперката кои се среќаваат во помали концентрации.

Антиоксидативниот ефект на плодот од лутата пиперка е еден од благотворните ефекти кои меѓу другите ги покажува ова растение. Затоа, целта на овој труд е да се одреди вкупната антиоксидативна способност на олеорезинот од *Capsicum annuum* L.

Како материјали за оваа цел се користени четири вариетети на пиперка култивирана во Република Македонија. Во етанолни екстракти добиени со Soxhlet методата, антиоксидативниот ефект беше испитуван со помош на FRAP методот.

Беше заклучено дека капсаициноидот покажува изразени антиоксидативни особини и притоа генотипот со највисока концентрација на капсаицин пројавува нависока антиоксидативна способност. Оттука може да заклучиме дека култивирањето на лута пиперка во Република Македонија е сосема оправдано, бидејќи таа може да се вброи во функционална исхрана, не само поради тоа што е богата со витамини и минерали, туку и поради тоа што поседува висока антиоксидативна способност.

**Клучни зборови:** алкалоиди, капсаициноиди, капсаицин, антиоксидативен капацитет, ФРАП, пиперка



## DETERMINATION OF TOTAL ANTIOXIDATIVE CAPACITIES OF CAPSAICINOIDS IN *CAPSICUM* SPECIES CULTIVATED IN REPUBLIC OF MACEDONIA

Viktorija Maksimova<sup>1</sup>, Liljana Koleva Gudeva<sup>2</sup>, Tatjana Ruskovska<sup>1</sup>,  
Rubin Gulaboski<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Medical Sciences, Goce Delcev University - Stip  
viktorija.maksmova@ugd.edu.mk, tatjana.ruskovska@ugd.edu.mk,  
rubin.gulaboski@ugd.edu.mk

<sup>2</sup>Faculty of agriculture, Goce Delcev University - Stip  
liljana.gudeva@ugd.edu.mk, rubin.gulaboski@ugd.edu.mk

### Abstract

Capsaicinoids are present in the genus *Capsicum*, *Solanaceae* family. They are group of alkaloids that according to the chemical structure belong to phenyletilamin group of alkaloids. Among them capsaicin covers up to 69% of the analoges, while the other capsaicinoids are encountered in smaller concentrations.

The antioxidant effect of hot pepper fruits is one of the beneficial characteristics that this plant is possessing. Antioxidants of natural origin are particularly useful because of the ability to neutralize free radicals and usually do not have side effects for the organism. The purpose of this paper is to determine the total antioxidant capacity of oleoresins of *Capsicum annum*.L. As a materials for this purpose were used four varieties of pepper cultivated in our country. Their ethanolic extracts obtained by Soxlet method, were examined using FRAP method in order to examine the total antioxidative capacities of the extracts.

It was noticed that capsaicin showed pronounced antioxidant properties and thus the genotype with the highest concentration of capsaicin exhibited high antioxidant capacity. It was concluded that the hot pepper cultivation in our country is justified because it could be included in the group of functional food, not only because of its richness in vitamins and minerals, but also because of its high antioxidant capacity.

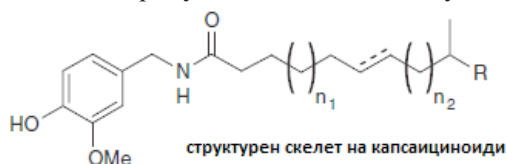
**Keywords:** *Alkaloids, capsaicinoids, capsaicin, antioxidative capacity, FRAP, pepper fruit*



## 1. Вовед

*Капсаициноидите* се јавуваат како комплексни мешавини од аналози, чиј профил е под епигенетска како и генетска контрола. Во рамките на еден вид, застапеноста на капсаициноидите се менува во различни органи кои се истражуваат, бидејќи дистрибуцијата од местото на синтеза на капсаициноидите е очигледно поефикасна за некои видови на капсаициноиди отколку за другите [1].

Повеќе од десетина капсаициноиди, прикажани на слика 1, се пронајдени во олеорезинот од пиперките, но, со оглед на тоа дека најголем дел од овие видови на лути пиперки никогаш не биле испитани хемиски, може да се каже дека бројот на капсаициноиди во природата може да го надмине сегашниот број. Покрај тоа, некои природни капсаициноиди се само привремено идентификувани без да бидат всушност изолирани.



$n_1$	$\Delta$	$n_2$	R	Тривијално име
1	+	0	CH <sub>3</sub>	Капсаицин
1	-	0	CH <sub>3</sub>	Дихидрокапсаицин
3	+	0	CH <sub>3</sub>	Bis-хомокапсаицин
4	+	0	CH <sub>3</sub>	Трис-хомокапсаицин
0	+	0	CH <sub>3</sub>	Норкапсаицин
0	-	0	CH <sub>3</sub>	Нордихидрокапсаицин
1	+	1	CH <sub>3</sub>	Хомокапсаицин I
1	-	1	CH <sub>3</sub>	Хомодихидрокапсаицин I
1	+	0	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub>	Хомокапсаицин II
1	-	0	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub>	Хомодихидрокапсаицин II
0	-	0	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub>	Хомонордихидрокапсаицин II
1	-	0	H	Нонивамид
2	-	0	H	Децивамид
3	-	0	H	Ундецивамид
4	-	0	H	Додецивамид
1	+	0	CH <sub>2</sub> OH	$\omega$ - хидроксикапсаицин
2	+	0	Me	Хомокапсаицин

Слика 1. Структура на капсаициноиди  
Figure 1. Structure of capsaicinoids



Капсаициноот 8-метил-*N*-ванилил-6-нонеамид претставува главниот претставник од широката палета на капсаициноидни алкалоиди. Лутиот вкус на пиперката потекнува токму од големото присуство на капсаицин во неа. Чистиот капсаицин е хидрофобно, безбојно, без мирис, кристално до восочно соединение. Неговата карактеристична хемиска структура ги дава својствата кои тој ги поседува [1, 2, 3]. Досега се докажани неколку биолошки, односно фармаколошки особини на капсаициноот, како што се аналетското, антимикуробното, антитуморно, антиоксидативното дејство [4, 5, 6]. Антиоксидативното дејство на капсаициноот заедно со другите соединенија кои се присутни во олеорезинот ќе бидат објаснети во овој труд. Антиоксидансите се соединенија кои имаат способност да ги неутрализираат слободните радикали. Слободните радикали пак можат да вршат оксидација на мембранските структури во клетката и со тоа да доведуваат до многу дегенеративни промени во организмот. Поради тоа антиоксидативната способност на капсаициноидите екстрахирани во олеорезинот од лути пиперки во Република Македонија не е истражуван и е од особено значење [7, 8]. Целта на истражувањето е да се види значењето на пиперката како култура во Р. Македонија, не само како градинарски производ туку да се докаже и нејзиното медицинско значење. Односно, преку докажување на антиоксидативните ефекти на капсаициноот да се прошири и зголеми можноста за искористување на оваа градинарска култура.

## 2. Материјали и методи на работа

### 2.1. Примероци од пиперки

Како материјали за работа се користени 4 различни генотипови на *Capsicum annuum* L. Лути пиперки кои беа земени за анализа се: *везена*, *феферона* и *бомбона* наспроти *сивријата*, како блага контрола. Семето од овие генотипови е земено од Ген банката при Земјоделскиот факултет на Универзитет „Гоце Делчев“ - Штип и беа култивирани во 2012 година во исти педолошки и климатски услови. Плодот од пиперките е собран во фаза на ботаничка зрелост во истата година, по што следеа фазите на сушење, и мелење [9, 10, 11]. Тие беа исушени до констатна маса, потоа веднаш пренесувани во ексикатор, и како такви се користени за добивање на олеорезини, односно нивни етанолни екстракти.

### 2.2. Метод за екстракција

Како постапка за екстракција е користен Soxlet методот [12], при што како растворувач беше искористен етанол (96% V/V), а од сушените



и мелени пиперки беа земени по 0,8 g од материјалот. Целокупната екстракција беше изведувана за времетраење од 5 часа. Добиените олеорезини се чувани во фрижидер на температура од +4°C.

### **2.3. Квантитативно одредување на капсаициноиди**

Содржината на капсаициноиди беше определена со примена на UV спектрофотометрија [13, 14], со користење на UV-VIS спектрофотометар, модел Cary 100, 9.0. За конструирање на калибрациона крива извршено е спектрофотометриско мерење на серијата од стандардни раствори на капсаицин во концентрационен опсег од 0,05 до 0,3 mg/L. Од равенката за линеарна зависност добиени се задоволителни резултати со висока вредност на коефициент на корелација,  $R=0,999$  (слика 2).

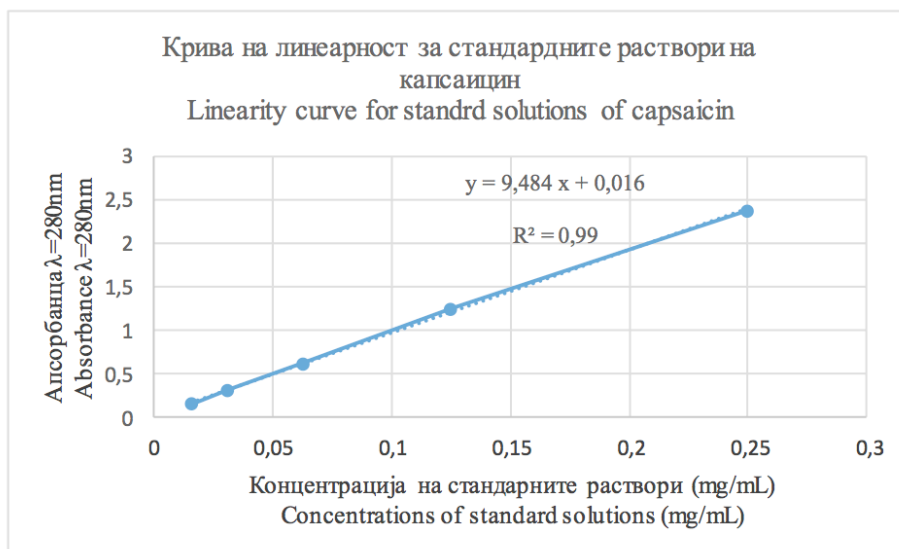
Мерењата за одредување на концентрација на капсаицин во олеорезините беа направени на истиот начин на бранова должина од 280 nm.

### **2.4. Одредување на антиоксидативниот капацитет**

Како метод за одредување на антиоксидативниот капацитет беше употребен FRAP (Ferric reducing antioxidant power) методот според Benzie и Strain, со мали модификации [15]. Овој метод се базира на редукцијата на  $Fe^{3+}$  во  $Fe^{2+}$ , под дејство на супстанцата која ги пројавува антиоксидативните особини (редуктор). Детекцијата на финалното обојување на примероците се врши на бранова должина од 595 nm.

## **3. Резултати и дискусија**

Иако според голем број автори [16, 17, 18] високоперформансната течна хроматографија претставува метода од избор за квантитативно одредување на капсаициноидите, UV спектрометријата дава задоволителни резултати при одредувањето на истиот. Линеарноста на методот е прикажана на слика 2. Со примена на равенката на линеарност  $y = 9.484x + 0.016$ , добиена за пет стандардни раствори на капсаицин, беше пресметана концентрацијата на капсаицин во испитуваните примероци од пиперка.



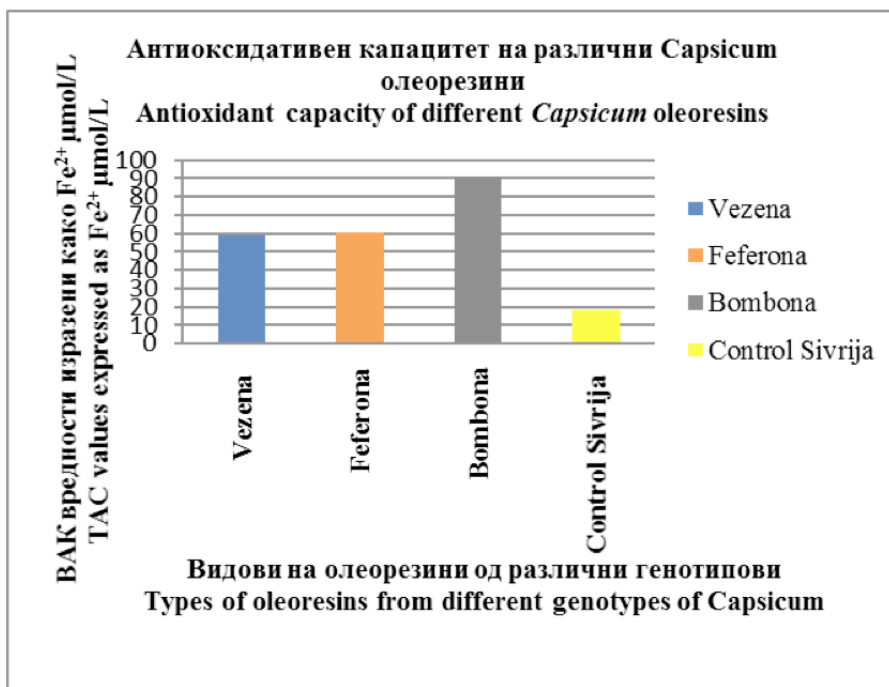
**Слика 2.** Крива на линеарност за стандардни раствори од капсаицин  
**Figure 2.** Linearity curve for standard solutions of capsaicin

Во табелата 1 се дадени резултатите за концентрација на капсаицин и вкупен антиоксидативен капацитет во етанолните олеорезини. Антиоксидативниот потенцијал на овие екстракти во графички приказ е даден на слика 3. Резултатите за антиоксидативниот потенцијал се споредени со резултатите од вода (како негативна контрола) и витамин Ц како позитивна контрола.

**Табела 1.** Концентрација на капсаицин и вкупен антиоксидативен капацитет (БАК) во етанолните олеорезини

**Table 1.** Concentration of capsaicin and total antioxidant capacities in ethanolic oleoresins

Етанолни олеорезини од различни генотипови	Концентрација на капсаицин (mg/mL)	Апсорбанца добиена со FRAP методот	БАК ( $\text{Fe}^{2+}$ $\mu\text{mol/L}$ )
везена	0.014	0.227	59
феферона	0.019	0.228	61
бомбона	0.052	0.249	90
сиврија	0.018	0.198	18



**Слика 3.** Антиоксидативен капацитет на различни *Capsicum* олеорезини  
**Figure 3.** Antioxidative capacity of different varieties of *Capsicum* oleoresins

Дадените резултати покажуваат добра корелација помеѓу концентрацијата на капсаицин во примероците и нивниот вкупен антиоксидативен потенцијал. Притоа може да се забележи дека генотипот *бомбона* има највисока концентрација на капсаицин, а притоа пројавува и највисока антиоксидативна активност од опфатените генотипови во оваа студија. Вкупниот антиоксидативен капацитет на олеорезините добиени од генотиповите *везена* и *феферона*, соодветно на содржината на капсаицин во нив (0,014 и 0,019 mg/ml) е помал отколку кај генотипот *бомбона*. За разлика од нив, контролниот генотип *сиврија* има видно помала антиоксидативна способност, бидејќи не содржи капсаиноиди, туку капсаноиди кои имаат слична хемиска структура со капсаиноидите, но различни биолошки/фармаколошки особини.



#### 4. Заклучок

Врз основа на добиените резултати може да заклучиме дека консумацијата на лути пиперки носи голем бенефит за здравјето на луѓето. Резултатите од ова испитување покажаа дека капсаицинолот во плодот од пиперката има изразено антиоксидативно својство. И покрај тоа што во пиперката се синтетизираат голем број на секундарни метаболити како што се витаминот Ц и Е, каротеноидите и други полифенолни соединенија, сепак капсаицинолот носи голем дел од антиоксидативните особини на пиперката [19, 20, 21]. Со тоа се оправдува широката примена на пиперката како земјоделска култура, бидејќи таа претставува не само нутриционистички извор туку и богат извор на фармаколошки активни компоненти како што се капсаиноидите.

#### Користена литература

- [1] Fattorusso E, Tagliatalata-Scafati O, (2008), *Modern alkaloids: Structure, isolation, synthesis, and biology*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, Weinheim, (book)
- [2] De Witt, D. (1999) “*The nature of capsaicin: The Chile Pepper Encyclopedia*”. Morrow Cookbooks, NY, USA (book).
- [3] Govindarajan, V.S. (1986) *Capsicum- production, technology, chemistry and quality - Part III. Chemistry of the colour, aroma and pungency stimuli*, CRC, Critical Review in Food Science and Nutrition., 24 (3): 254-355.
- [4] Perucka, I., Materska, M. (2003) “*Antioxidant activity and contents of capsaicinoids isolated from paprika fruits*”. Pol. J. Food Nutr. Sci., 12/53, 2, 15-18.
- [5] Masayuki U., Shingo Y., and Kazuo W., (1991) “The role of capsaicin afferent nerves in protective effect of capsaicin against absolute ethanol – induced gastric lesions in guts”, Japan. J. Pharmacol. 55, 279.
- [6] Shi-Yin Guo, Guo-Ping Yang, De-Jian Jiang, Feng Wang, Tao Song, Xing-He Tan, and Zhen-Qiu Sun, (2008) “*Protection of capsaicin against hypoxia-reoxygenation-induced apoptosis of rat hippocampal neurons*”, Can. J. Physiol. Pharmacol., 86: 785–792
- [7] Turgut C., Newby B., Cutright J.T., (2004) “*Determination of optimal water solubility of capsaicin for its usage as a non-toxic antifoulant*” ESPR- Environ Sci & Pollut Res 2004, 11.(1) 7-10.
- [8] Koleva-Gudeva, L., Rafajlovska V., Spasenovski M. (2004) “*In vivo and in vitro content of capsaicin in pepper*” VIII Symposium Biotechnology and Agroindustry, Velika Plana, Serbia. Proceeding, pp. 252-259
- [9] Sanatombi K., Sharma G. J., (2008) “*Capsaicin content and pungency of Different Capsicum spp. cultivars*” Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj, 36 (2), 89-90.





- [10] *Descriptors for Capsicum (Capsicum spp.)*, 1995, International Plant Genetic Resources Institute. (book)
- [11] Contreras-Padilla, M., Yahia, E. M. (1998) “*Changes in capsaicinoids during development, maturation and senescence of chile peppers and relation with peroxidase activity*”. J. Agric. Food Chem., 46, 2075-2079.
- [12] Rafajlovska V., Slavevska Raicki R., Klopcevska J., Srbinska M., “*Extraction of Oleoresin from Pungent Red Paprika Under Different Conditions*”.
- [13] Davis B.C., Markey E. C., Buscha. M., Busch W.K. “*Determination of Capsaicinoids in Habanero Peppers by Chemometric Analysis of UV Spectral Data*”.
- [14] Wagner E.C., Cahill M.T., Marshall A. P., (2011) “*Extraction, Purification, and Spectroscopic Characterization of a Mixture of Capsaicinoids*” J. Chem. Educ., 88, 1574–1579.
- [15] Benzie and strain
- [16] Basu, K.S. and De Krishna A. (eds). (2003). *Capsicum. Medicinal and aromatic Plants –Industrial Profiles*. London: Taylor & Francis.
- [17] Abdullah Al Othman Z., Badjah Hadj Ahmed Y., Abdelaty Habila M., Abdel Ghafar A., (2011) “*Determination of Capsaicin and Dihydrocapsaicin in Capsicum Fruit Samples using High Performance Liquid Chromatography*” *Molecules*, 16, 8919-8929.
- [18] Perucka I., Oleszek W., (2000) “*Extraction and determination of capsaicinoids in fruit of hot pepper Capsicum annumL. by spectrophotometry and high-performance liquid chromatography*”, *Food Chemistry*, 71, 287-291.
- [19] “*Final Report on the Safety Assessment of Capsicum Annuum Extract, Capsicum Annuum Fruit Extract, Capsicum Annuum Resin, Capsicum Annuum Fruit Powder, Capsicum Frutescens Fruit, Capsicum Frutescens Fruit Extract, Capsicum Frutescens Resin, and Capsaicin*” (2007), American College of Toxicology, *International Journal of Toxicology*, 26 (Suppl. 1): 3–106.
- [20] Maksimova Viktorija, Koleva G. Liljana, Ruskovska Tatjana, Cvetanovska Ana, Gulaboski Rubin, (2013) *Correlation between antioxidative potential of pure capsaicin and capsicum oleoresins*, 8<sup>th</sup> CMAPSEEC, Albania, Abstract book, 229
- [21] Palevitch, D., Craker, L. E.” *Nutritional and medicinal importance of red pepper (Capsicum spp.)*. J. Herbs Spices Med. Plants 1995,3, 55-83.