

HPLC 법에 의한 국산 고추에 함유되어 있는 Nonivamide의 신규 분석법 개발

최 석 현[†]

경동정보대학 식음료조리과

Improved High-Performance Liquid Chromatographic Method for the Determination of N-vanillyl-n-nonivamide(nonivamide) in Korean Hot Peppers

Suk-Hyun Choi[†]

Dept. of Food & Beverage Culinary, Kyungdong College of Techno-Information, Geongsang 712-718, Korea

Abstract

We report a novel HPLC method for analyzing the capsaicinoids and nonivamide. The following conditions were used: a total column and column temperature of 3°C, a detection wavelength of 280 nm, an eluent containing acetonitrile : 0.5% formic acid(31:69, v/v). The experimental data was compared with standard nonivamide and capsaicin. The results showed that nonivamide was eluted in 96.7 minutes with a recovery ratio of 96.5% after adding known nonivamide. In addition, the detection limit for nonivamide was 18.6 ng. The capsaicinoids from Korean pepper were extracted (after blooming 60th) from 3 breeds cultivated in Korea, Buchon, Chungyang and Hanbando. and crisis it analyzed sympathizes the nonivamide in the result nonivamide from the Buchon and the Chungyang which are not detected from the Hanbando 0.16~0.24 µg/g it detects with very small amount it contains it confirmed the each capsaicinoid with the HPLC and the LC-MS. These results are expected contribute to the quality control of various product processes, which includes product delivery inspection as well as examining the capsaicinoids present in the product for possible medicine manufacture and various foodstuff, and the nonivamide content, which may be a feed for various manufacturing processes involving chemical synthesis.

Key words : Nonivamide, capsaicinoids, Korean hot pepper, high-performance liquid chromatographic(HPLC) method, Korean pepper after blooming 60th.

서 론

고추에는 capsaicinoids라 불리우는 자극성 신미(辛味)성분이 함유되어 있다.

Capsaicinoids는 11종류의 analogus가 알려져 있으며 그 골격은 모두 탄소수 10~11개의 acyl chain과 vanillamide(4-hydroxy-3-methoxybenzylamide)가 결합하여 이루어진 것이다. 또한 고추의 주요 신미(辛味)성분은 capsaicin, nordihydrocapsaicin 및 dihydrocapsaicin의 3종류로 전체 capsaicinoids의 90% 이상을 차지하고 있으며 그 밖에 nonivamide, homocapsaicin(-I,-II), homodihydrocapsaicin(-I,-II)이 미량 함유되어 있다(Fig. 1. Govindarajan 1985, Surh & Lee 1995, Cordell & Araujo 1993, Govindarajan & Sathyaranayana 1991). Capsaicinoids는 매운 맛을 내는 것이 특징이며 조미료로서 세계 각국의 다양한 요리에 이용되고 있다. 또한, 최근에는 capsaici-

noids가 기능성 물질로 주목을 받고 있어 *Bacilli*, *Clostridiae*, *Salmonellae*, *Helicobacter*에 대한 항균 작용(Cichewicz 1996, Molina Torres et al 1999, Careaga et al 2003, Graham et al 1999), 항산화 작용(Rosa et al 2002), 항종양성(Surh Y 2002), 통증 완화 작용(Szolcsanyi 2004, Cordell & Araujo 1993) 등의 연구가 활발히 이루어지고 있다.

고추의 신미(辛味) 성분의 분석 방법에 관해서는 colorimetry/spectrophotometry 법(Romos 1979, Rymal et al 1984), gaschromatography 법(Todd et al 1977, Krajewska & Powers 1987), liquid chromatography 법(Iwai & Fujiwara 1979, Hoffman et al 1983, Chiang GH 1986), Aliquid chromatography-mass spectrometry 법(Reilly & Crouch 2001, Reilly et al 2001, Reilly et al 2002, Thompson et al 2005), enzyme immunoassay 법(Perkins et al 2002) 등이 보고되어 있다.

고속 액체 chromatography법(HPLC)으로 신미(辛味)성분인 capsaicinoids를 분석하면 nordihydrocapsaicin, capsaicin과 dihydrocapsaicin의 3종류는 각기 다른 분자량을 가지고 있기

[†] Corresponding author : Suk-Hyun Choi, Tel : +82-53-850-8281, Fax : +82-53-850-8177, E-mail : mosimosi21@kdtc.ac.kr

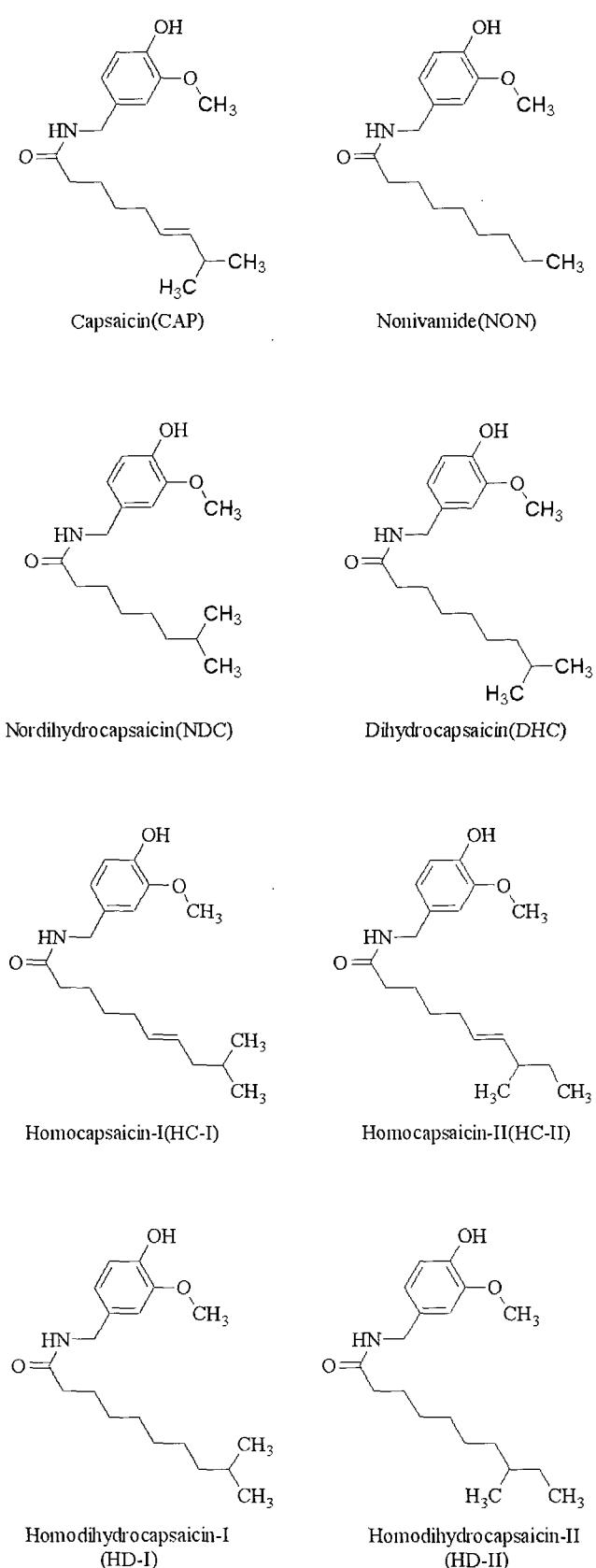


Fig. 1. Structures of capsaicinoids in Capsicum fruits.

때문에 비교적 분리하기가 용이하나, nordihydrocapsaicin, nonivamide, homocapsaicin-I, homocapsaicin-II, homodihydrocapsaine-I, homodihydrocapsaicin-II는 각각의 분자량이 294, 320 및 322로 동일하기 때문에 peak가 겹쳐져 분리가 불가능함으로 이러한 capsaicinoids의 정확한 분리 분석을 하기 위해서는 고가(高價)의 LC-MS(Liquid Chromatographic-Mass spectrometry) 분석기를 사용해왔다(Reilly & Crouch 2001, Reilly et al 2001, Reilly et al 2002, Thompson et al 2005). 종래 nonivamide는 화학합성 capsaicin라 불리고 천연 식물체에는 존재하지 않는다고 보고되어 왔다(Cordell & Araujo 1993, Romos PJJ 1979). 그러나 최근 LC-MS분석법에 의해 habanero, anaheim, red-chili, green-chili, green bell pepper 중에 nonivamide가 존재한다는 것이 밝혀졌다(Reilly & Crouch 2001). 그러나 이 분석은 고가(高價)의 LC-MS를 사용한 것으로서 일반적이고 보편적으로 사용하는데 많은 어려움이 있다. 또한 HPLC를 이용한 고추의 nonivamide 함량 조사에 관한 연구는 전무한 실정이다. 이에 본 연구에서는 capsaicinoids 성분의 일종인 nonivamide의 분리 방법을 모색해 보고자 하며 학교 및 연구소 등에 널리 보급되어 있는 HPLC를 이용하여 국산 고추의 추출물로 간편하고 저가(低價)로 또한 재현성이 높게 nonivamide를 분리 분석하는 방법을 최초로 개발하여 보고한다.

실험재료 및 방법

1. 실험 재료

1) 표준 제품의 Capsaicin과 Nonivamide

표준 제품의 capsaicin(순도 97% 이상, catalog no.21748, lot no. 1118949)은 Fluka 社(St. Louis, MO) 제품을 구입하여 사용하였으며 capsaicin(순도 60%, Capsicum fruit의 추출물, Lot no. 101K1166) 및 nonivamide(*N*-vanillylnonaamide, 순도 97%이상, lot no. 054K2610)는 Sigma 社(St. Louis, MO)의 제품을 사용했다. 또한 실험에 사용한 용매는 HPLC용 특급 시약을 사용했다.

2) 실험에 사용한 고추

본 실험에 사용한 국산 고추의 품종은 Hanbando, Buchon, Chungyang의 3종류로, 경산시 소재의 농가에서 재배하였으며 개화 후부터 라벨을 붙이고 개화 후 60일째의 숙성한 블은 고추를 채취하여 실험에 사용하였다.

2. 실험 방법

1) 고추의 Capsaicin 추출법

고추는 균일한 크기로 각 3개씩 선택하여, 중량을 측정하고 고추를 잘게 절단하여 grinder에 넣고 50 mL의 methanol을 가해 마쇄하였으며 여과지(Advantec No.2)로 여과하였다. 잔사는 20 mL의 methanol로 깨끗하게 2회 씻어 methanol 150 mL로 정용하였다. methanol 추출액은 원심분리(15,000 rpm; 10/min)한 후, 상등액 50 μL를 직접 HPLC에 주입하였다.

2) 고추의 Nonivamide 분석법

고추의 nonivamide 분석은 다음과 같은 조건으로 시행하였다. HPLC는 HITACHI 655A-II 형(HitachiSeisakusho, Tokyo, Japan)을 사용하였으며 검출기는 SHIMADU SPD-10 Avp (Shimadzu Seisakusho, Kyoto, Japan), 검출 파장은 280 nm로 설정하였다. 또한 column은 GL Science 社의 Inertsil ODS-3v(5 μm, 4.0×250 mm)를 사용하였으며 용리액은 acetonitrile과 0.5% formic acid (31:69,v/v)를 사용하였고 유속은 1 mL/min, column 온도는 30°C, chart speed는 2.5 mm/min로 설정하였다.

3) 고추의 Nonivamide 동정

고추의 nonivamide 동정은 Finnigan LCQ Advantage MAX 형의 Liquid Chromatography-Mass spectrometry(LC-MS)(Finnigan, San Jose, CA)에 의해 분석하였다. 분리 column은 Inertsil ODS-3v(4.5×250 mm, 5.0 μm)를 사용하였다. 유속을 0.75 mL/min로 변경한 것 이외, 용리액을 포함한 다른 분석 조건은 상기의 HPLC에 의한 capsaicin의 분리법과 동일한 방법을 채용하였으며 또한 Mass의 측정은 positive ion mode (MS+H)로 측정하였다. 한편, Mass spectrometry의 조건은 다음과 같이 설정하였다. Flow source voltage, 5.5kV; source current, 80 μA; capillary voltage, 27V; tube lens offset, 45V; multipole RF amplifier, 400(Vp-p); spray voltage, 5.3 kV.

4) Nonivamide의 정량법

표준 제품 nonivamide을 상기의 조건으로 분석하고 얻은 peak 면적을 Hitachi Chromato-integrator D-2500으로 측정하였다. 표준 제품 nonivamide의 기지(既知)시료 함량과 면적을 구해 각각의 검량선을 작성하였다. 한편 고추 추출물을 HPLC로 분석해 얻은 면적을 기지(既知)시료의 검량선을 이용하여 nonivamide의 함량을 산출하였다.

결과 및 고찰

1. Nonivamide의 분리를 위한 용리액 농도와 Column 온도의 설정

Capsaicinoids의 일종인 nonivamide의 분석은 상당히 어려운 분석 중의 하나이다. 그 이유의 첫 번째는 고추 안에 극미량만 존재한다는 것, 두 번째로 nonivamide는 nordihydrocapsaicin과 동일한 분자량(M=294)을 가지고 있는 것이다. 이 두 가지 원인에 의해 일반적으로 많이 사용되는 분석법인 GC 법, HPLC 법으로는 분리 분석이 불가능하다고 알려져 왔다. 여기서 본 연구는 HPLC로의 nonivamide 분리 분석이 가능한지 불가능한지를 Table 1과 같은 분리 조건으로 조사 검토하였다. 분석 column은 역상계 Inertsil ODS-3v를 사용하고 column 온도를 20°C, 30°C 및 40°C로 설정하였다. 또한 용리액은 acetonitrile과 0.5% formic acid의 혼합액을 사용하고 acetonitrile의 농도를 31~45%까지 변화를 주어 nonivamide를 조사하였다. 그 결과 Table 1과 같이 column의 온도 및 acetonitrile 농도 차이에 의해 nonivamide와 capsaicin이 분리됨을 알 수 있다. 그 중에서 가장 양호한 분리 조건을 검토한 결과 column 온도가 20~30°C의 범위 내에서, acetonitrile과 0.5% formic acid의 농도비(%)가 31:69(v/v)에서 분리했을 경우가

Table 1. Effects of acetonitrile/0.5% formic acid ratios of the mobile phase and column temperature on the HPLC retention times(min) of nonivamide and capsaicin^a

		Ratio of acetonitrile to 0.5% formic acid				
Capsaicinoid		31/69	33/67	35/65	40/60	45/55
20°C column	Nonivamide(NON)	96.33±0.08 ^b	70.88±0.08	53.07±0.00	28.82±0.15	17.27±0.04
	Capsaicin(CAP)	100.28±0.02	73.44±0.08	54.71±0.01	29.90±0.11	17.27±0.04
30 °C column	Nonivamide(NON)	96.73±0.11	68.47±0.04	53.80±0.18	28.77±0.01	16.71±0.02
	Capsaicin(CAP)	100.72±0.16	70.94±0.03	55.75±0.01	29.93±0.07	16.73±0.02
40°C column	Nonivamide(NON)	95.15±0.03	69.00±0.36	51.93±0.03	27.50±0.18	16.87±0.01
	Capsaicin(CAP)	98.96±0.00	71.50±0.38	53.56±0.04	27.88±0.17	16.87±0.01

^a Conditions: column, Inertsil ODS-3v(5 μM particle size); column length, 4×250 mm; flow rate, 1/min; detector, UV at 280 nm.

^b Retention time (min); averages±SD; n=3.

최적의 분리 조건임을 알 수 있었다.

2. 표준 제품 Nonivamide 및 Capsaicin의 HPLC Chromatogram

Column 온도를 30°C, 용리액을 acetonitrile : 0.5% formic acid(31:69, v/v)를 사용하여 표준 제품 nonivamide와 capsaicin(Fluka 社製), capsaicin(Sigma 社製)의 HPLC chromatogram을 분석하였으며 Fig. 2에서는 Retention time이 115분까지 검출

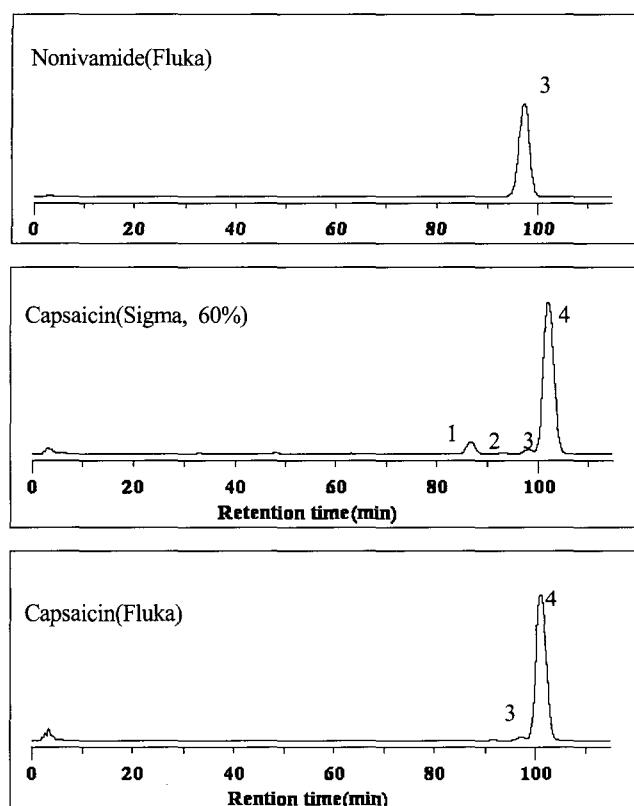


Fig. 2. HPLC chromatogram of three commercial capsaicin.
Column; Inertsile ODS-3 (5 μ m, 4.0 \times 250 mm), Column temperature, 30°C; mobile phase; acetonitrile : 0.5% formic acid (31:69, v/v), Detector; UV at 280 nm. Chart speed, 1.25 mm/min, Flow rate; 1 mL/min. Peaks: 1, nordihydrocapsaicin; 2, unidentified compound; 3, nonivamide; 4, capsaicin.

Table 2. HPLC analysis of standards: retention times, minimum detection limits, tests for linearity, and recoveries after spiking of peppers

Compound	Retention time(min)	Detection limit(ng)	Linearity range ^a (ng)	Recovery after spiking ^b (%)
Nonivamide	96.73 \pm 0.11	18.60	0~2000	97.65 \pm 3.4
Capsaicin	100.72 \pm 0.16	17.28	0~2000	96.6 \pm 2.3

^a Linear plots of concentration versus peak area in μ V; n=3; r^2 =0.99 for all compounds.

^b Korean red pepper(Chungyang) was spiked with a commercial mixture of capsaicinoids from Sigma capsaicin before extraction.

된 capsaicinoids에 대해서만 표시하였다. Fig. 2에서 알 수 있는 것처럼 Fuka 社製의 nonivamide(peak.3)은 Rt=96.3 min에 검출되었고 다른 이물질은 검출되지 않았다. 한편 Sigma 社製의 capsaicin(순도 60%)에서는 4종류의 물질이 검출되었다. 주물질로는 capsaicin(peak. 4)이고 그 밖에 nordihydrocapsaicin(peak. 1), 미동정 물질(peak. 2)과 nonivamide(peak. 3)가 검출되었다. 또한 Fuka 社製의 capsaicin은 nonivamide와 capsaicin 두 물질이 검출되었다. 이 결과 두 회사의 제품 모두에서 미량의 nonivamide가 혼입되어 있음을 알 수 있다.

3. HPLC에 의한 Nonivamide의 Retention Time, 최소 검출량 및 회수율

Table 2는 nonivamide를 포함한 4종류의 capsaicinoids의 Retention time, 최저 검출 감도, 검량선의 범위 및 회수율 등을 나타낸 것이다. nonivamide와 capsaicin은 Rt에서 약 3분의 차이를 보였으며 두 peak는 완전하게 분리되는 것을 알 수 있었다. 또한 nonivamide의 최저 검출 감도를 구한 결과 18.6 ng으로 산출되었으며 nonivamide의 회수율(spiking 법)은 95.6% 이었다. 이 회수율은 Reilly *et al*(2002) 등이 혈액 중의 nonivamide를 chromatography-tandem mass spectrometry를 사용해서 분석한 85~90%의 회수율과 비교해도 높은 값임을 알 수 있다.

4. 3품종 국산 고추의 HPLC chromatogram

3품종의 국산 고추[Hanbando(A), Buchon(B), Chungyang(C)]를 재배해 개화한 시점부터 라벨을 붙이기 시작해 개화 60일 후의 고추에서 capsaicinoids를 추출하고 HPLC로 분석한 chromatogram을 Fig. 3으로 나타내었다. Fig. 3에서 알 수 있는 것처럼 A 품종의 HPLC chromatogram에서 peak가 두 점 검출되었다. 표준 제품 capsaicinoids의 Rt과 비교하여 peak. 1은 NDC, peak. 4는 CAP로 추정할 수 있으며 A 품종에서는 nonivamide는 검출되지 않았다. 한편 B 품종에서는 peak가 4점 검출되어 peak. 1=NDC, peak. 2=미동정 물질(UIP), peak. 3=NOV, peak. 4=CAP로 추정된다. 마지막으로 C 품종에 대해서는 B 품종과 동일한 peak가 4점 검출되어 각각의 peak는 B 품종과 동일한 peak로 추정된다. 3품종의 각각의 capsaici-

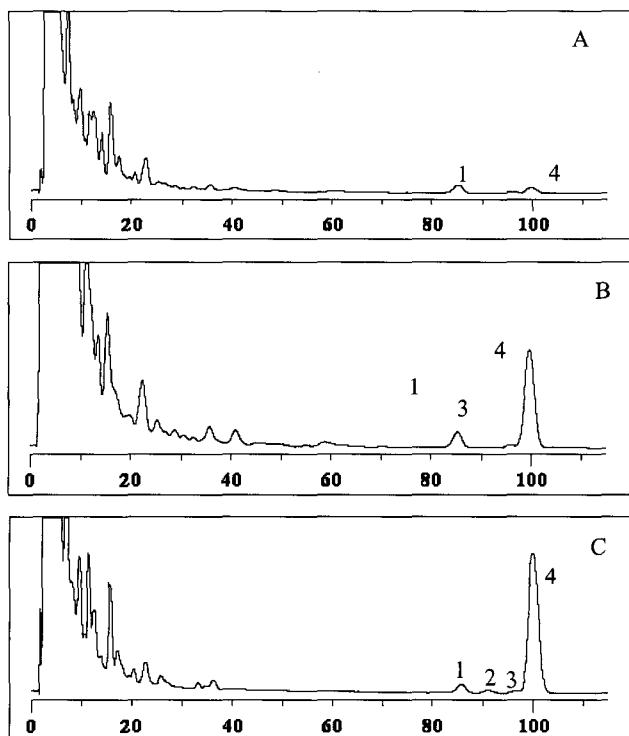


Fig. 3. HPLC chromatogram of the capsaicinoids in whole-extracted from three kinds of Korean Hot peppers (A:Hanbando; B:Buchon; C:Chungyang) in 60 days after flowering. Column; Inertsile ODS-3 ($5 \mu\text{m}$, $4.0 \times 250 \text{ mm}$), Column Temperature, 30°C ; Mobile phase; acetonitrile : 0.5% formic acid (31:69, v/v), Detector; UV at 280 nm. Chart speed, $1.25 \text{ mm}/\text{min}$. Flow rate; $1 \text{ mL}/\text{min}$. Peaks: 1, nordihydrocapsaicin; 2, unidentified; 3, nonivamide; 4, capsaicin.

noid의 함량을 HPLC chromatogram의 peak의 크기 및 면적으로 추정하여 3품종의 capsaicinoid의 함량 순으로 나타내면 A < B < C 순으로 capsaicinoid의 함량이 가장 많은 것이 C 품종임을 알 수 있었다.

5. LC-MS에 의한 고추의 Nonivamide 동정

재배하여 개화 후 60일된 고추(Chungyang)에서 얻은 추출물을 LC-MS로 분석하여 각각의 capsaicinoids를 동정하였다. Fig. 4는 nonivamide를 중심으로 그 주변에서 검출된 capsaicinoid 4개 peak의 ion mass chromatogram과 mass spectra를 표시한 것이다. 분자량($M=294$)에 대하여 ion mass chromatogram을 조사하니 peak 3점이 검출되었다. peak. 2는 peak. 1과 일부 겹쳐져 있으나 peak. 3은 완전히 분리되었다. 한편 $m/z = 306$ 의 ion mass chromatogram은 단일의 peak. 4만이 검출되었다. 여기서 peak. 1~4의 각각의 질량을 분석한 결과 peak. 1, peak. 2 및 peak. 3은 $m/z=293.9$ 인 것을 알 수 있었다. 실험 결과와 표준제품 capsaicin의 Rt의 결과를 종합적으로 검

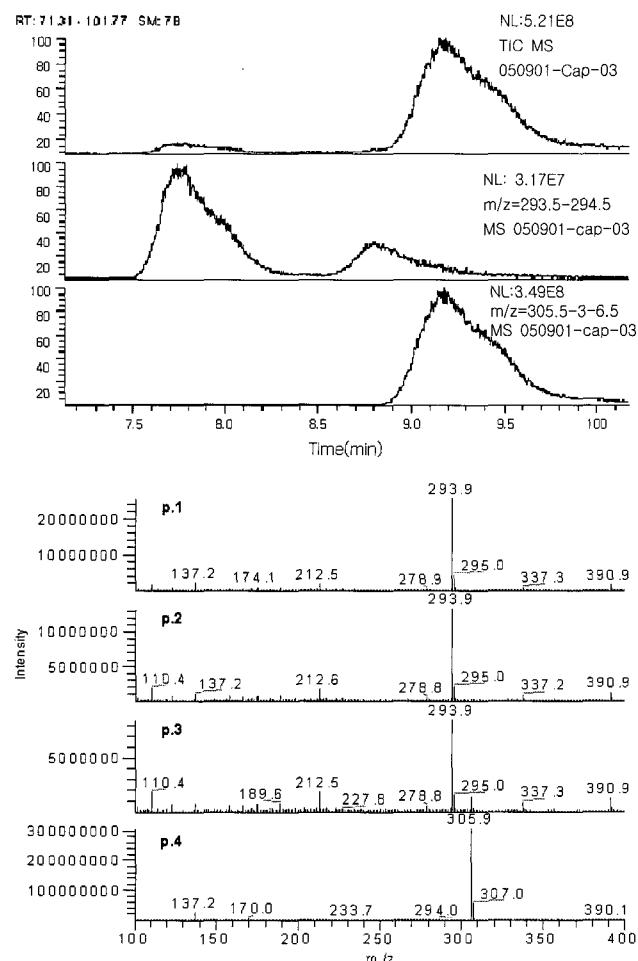


Fig. 4. Ion mass chromatograms and mass spectra of nordihydrocapsaicin (1), unidentified (2), nonivamide (3) and capsaicin (4) in Korea hot peppers determined by LC-MS.

Table 3. Nonivamide content of three whole Korean red peppers after 60 days of flowering^a

Pepper	Nonivamide	Capsaicin
Hanbando	nd	2.01 ± 0.13
Buchon	0.16 ± 0.02	41.51 ± 1.78
Chungyang	0.24 ± 0.04	35.65 ± 1.85

^a Values in $\mu\text{g}/\text{g} \pm \text{SD}$. n=3.

포한 결과 peak. 1은 NDC, peak. 2는 미동정 물질(UIP), peak. 3은 nonivamide, peak. 4는 capsaicin로 각각 동정 되었다. 종래, nonivamide는 화학 합성품으로 알려져 식물체안의 존재 유무가 논쟁의 대상이 되어 있었으나(Cordell & Araujo 1993, James & Pyman 1925) 본 연구 결과 식물체내에도 nonivamide가 존재하는 것이 확인되었다.

6. 개화 60일 후 3품종 고추의 Nonivamide 함량

개화 후 60일된 완숙한 붉은 고추 3종으로부터 capsaicinoids를 추출해 nonivamide 함유량을 조사한 것이 Table 3이다. Hanbando 종에 함유되어 있는 capsaicinoids는 전체 capsaicinoids 함량이 9.65 $\mu\text{g/g}$ 으로 극히 미량이 존재함을 알 수 있었으며 또한 nonivamide는 검출되지 않았다. Buchon 종에 관해서는 nonivamide가 0.16 $\mu\text{g/g}$ 함유되어 있어 전체 capsaicinoids 80.27 $\mu\text{g/g}$ 의 0.2%로 밝혀졌다. Chungyang 종에 관해서는 nonivamide가 0.24 $\mu\text{g/g}$ 으로 전체 capsaicinoids의 0.20%임을 알 수 있다. 고추에 함유되어 있는 nonivamide 함량에 관한 연구는 많지 않으나 Reilly 등(Reilly & Crouch 2001)은 LC/MS/MS를 사용하여 고추 8종류에 함유되어 있는 nonivamide를 측정하였다. 그 결과 nonivamide 함량은 품종에 따라 큰 차이를 보이고 전혀 검출되지 않는 품종(Yellow Bell)과 전체 capsaicinoids의 7.2%(Green Bell)가 함유되어 있는 품종이 있음을 밝혀냈으며 대부분의 품종이 1~2% 이하로 함유되어 있다고 보고하였다. 본 연구에서는 nonivamide가 전혀 검출되지 않은 품종은 Hanbando였고, 다른 2품종에서는 0.2% 정도 함유되어 있음을 알 수 있었다.

요약 및 결론

본 연구는 capsaicinoids의 동족체이며 분석이 난이한 nonivamide를 HPLC로 분석하는 방법을 개발하였기에 그 결과를 보고하고자 한다.

- 표준 제품 nonivamide 및 capsaicin을 역상계 column, column 온도를 30°C, 검출 파장 280 nm 용리액 acetonitrile : 0.5% formic acid (31:69,v/v)로 분석한 결과 nonivamide는 96.7분에서 용출되었다. 고추 시료에 기지(既知)의 nonivamide량을 가해서 회수율을 구한 결과 95.6%로 양호한 결과를 얻었다. 또한 nonivamide의 최소 검출량은 18.6 ng이였다.
- 재배한 3품종의 국산 고추(개화 후 60일)의 capsaicinoids를 추출하여 HPLC, LC-MS로 각각의 capsaicinoid을 분리 분석하고 nonivamide를 동정하였다. 또한 nonivamide양이 품종에 따라 다르며 Hanbando에서는 검출되지 않았지만 Buchon 및 Chungyang에서 미량(0.16~0.24 $\mu\text{g/g}$) 함유되어 있는 것을 검출하였다.
- 본 실험 방법으로 화학 합성으로 제조된 nonivamide의 제품 품질 검사 및 capsaicinoids 가공 제품 중의(의약제조품, 각종 식품 등) nonivamide의 존재 유무를 조사하는 것이 가능해졌으며 본 연구 결과는 제품 출하 검사를 포함한 각종 제품 검사 공정 관리에 공헌할 수 있다고 사료된다.

문현

- Careaga M, Fernandez E, Dorantes L, Mota L, Jaramillo ME, Hernandez-Sanc-hez H (2003) Antibacterial activity of *Capsicum* extract against *Salmonella typhimurium* and *Pseudomonas aeruginosa* inoculated in raw beef meat. *Int J Food Microbiol* 83: 331-335.
- Chiang GH (1986) HPLC analysis of capsaicins and simultaneous determination of capsaicins and pipeine by HPLC-ECD and UV. *J Food Sci* 51: 499-503.
- Cichewicz RH (1996) The antimicrobial properties of chile peppers (*Capsicum* species) and their uses in Mayan medicine. *J Ethnopharmacol* 52: 61-70.
- Cordell GA, Araujo OE (1993) Capsaicin:identification, nomenclature, and pharmacotherapy. *Annals Pharmacol* 27: 330-336.
- Govindarajan VS, Sathyaranayana MN (1991) Capsicum- production, technology, chemistry and quality. Part V: impact on physiology, pharmacology, nutrition, and metabolism: structure, pungency, pain, and desensitization sequences. *CRC Crit Rev Food Sci Nutr* 29: 435-474.
- Graham DY, Anderson SY, Lang T (1999) Galic aor jalapeno peppers for treatment of *Helicobacter pylori* infection. *Am J Gastroenterol* 94: 1200-1202.
- Hoffman PG, Lego MC, Galetto WG (1983) Separation and quantification of red pepper major heat principles by reverse-phase HPLC. *J Agric Food Chem* 31: 1326-1330.
- Iwai K, Suzuki T, Fujiwara H (1979) Simultaneous microdetermination of capsaicin and its four analogues by HPLC and GC-MS. *J Chromatogra* 172: 303-311.
- James ECS, Pyman FL (1925) Relation between chemical constitution and pungency in acid amides. *J Amer Chem Soc* 127: 2588-2598.
- Molina-Torres J, Garcia-Chavez A, Ramirez-Chavez E (1999) Antimicrobial properties of alkamides present in flavouring plants traditionally used in Mesoamerica: affinin and capsaicin. *J Ethnopharmacol* 64: 241-248.
- Perkins B, Bushway R, Guthrie K, Fan T, Stewart B, Prince A, Williams M (2002) Determination of capsaicinoids in salsa by liquid chromatography and enzyme immunoassay. *J AOAC Int* 85: 82-85.
- Reilly CA, Crouch DJ (2001) Quantitative analysis of capsaicinoids in fresh peppers, oleoresin capsicum, and pepper spray products. *J Forensic Sci* 46: 502-509.

- Reilly CA, Crouch DJ, Yost GS, Fatah AA (2001) Determination of capsaicin, dihydrocapsaicin, and nonivamide in self-defense weapons by liquid chromatographymass spectrometry and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* 912: 259-267.
- Reilly CA, Crouch DJ, Yost GS, Fatah AA (2002) Determination of capsaicin, nonivamide, and dihydrocapsaicin in blood and tissue by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Anal Toxicol* 26: 313-319.
- Romos PJJ (1979) Further study of the spectrophotometric determination of capsaicin. *J Assoc Anal Chem* 67: 658-659.
- Rosa A, Deiana M, Casu V, Paccagini S, Appendino G, Ballero M, Densi MA (2002) Antioxidant activity of capsaicinoids. *J Agric Food Chem* 50: 7396-7401.
- Rymal KS, Cosper RD, Smith DA (1984) Injection-extraction procedures for rapid determination of relative pungency in fresh jalapeno peppers. *J Assoc Anal Chem* 67: 658-659.
- Surh Y (2002) More than spice: capsaicin in hot chili peppers makes tumor cells commit suicide. *J Natl Cancer Inst* 94: 1263-1265.
- Surh YJ, Lee SS (1995) Capsaicin, a double edged-sword: toxicity, metabolism, and chemopreventive potential. *Life Sci* 56: 1845-1855.
- Szolcsanyi J (2004) Forty years in capsaicin research for sensory pharmacology and physiology. *Neuropeptides* 38: 377-384.
- Thompson RQ, Phinney KW, Welch MJ, White E (2005) Quantitative determination of capsaicinoids by liquid chromatography-electrospray mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem* 85: 82-85.
- Todd PH, Bensinger MG, Biftu T (1977) Determination of pungency due to capsaicin by gas liquid chromatography. *J Food Sci* 42: 660-680.

(2006년 7월 24일 접수, 2006년 9월 15일 채택)