항산화 활성, 폴리페놀 함량 및 적색소 함량 분석을 통한 고기능성 적색 파프리카(*Capsicum annuum* L.) 유전자원 선발

박종빈¹ · 이강민¹ · 박종숙² · 김주² · 이준대^{1*}

¹전북대학교 농업생명과학대학 농업과학기술연구소 원예학과, ²전북농업기술원 과채류연구소

Selection of High Functional Red Paprika (*Capsicum annuum* L.) Germplasms by Antioxidant Activity, Polyphenol Content, and Red Pigment Amount

Jongbin Park¹, Kang Min Lee¹, Jong-Suk Park², Ju Kim², and Jundae Lee^{1*}

¹Department of Horticulture, Institute of Agricultural Science and Technology, Jeonbuk National University, Jeonju 54896, Republic of Korea

²Fruit & Vegetable Research Institute, Jeonbuk Agricultural Research and Extension Services, Gunsan 54062, Republic of Korea

Abstract The color and functionality of paprika fruits (*Capsicum annuum* L.) are important factors that determine consumption preferences. Paprika contains a large amount of functional phytochemicals, such as carotenoids and polyphenols. In this study, the total polyphenol content by total phenol content (TPC) assay, antioxidant activity by 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) and ferric reducing antioxidant power (FRAP), and total red pigment content by American spice trade association (ASTA) color were evaluated in a total of 93 commercial cultivars and germplasms of red paprika. In results, the total polyphenol content, antioxidant activity by ABTS and FRAP, and total red pigment content ranged from 6.35-11.84 mg GAE · g⁻¹ dry weight (DW), 19.80-44.84 mg trolox · g⁻¹ DW, 8.82-31.06 mg trolox · g⁻¹ DW, and 5.30-75.03 ASTA value, respectively. For each trait, there were 2, 31, 16, and 44 germplasms, respectively, which were higher than those of the commercial cultivars. The correlation analysis between the total polyphenol content and antioxidant activity (ABTS and FRAP) showed highly positive correlations, with $r=0.69$ and $r=0.75$, respectively. In contrast, the ASTA values showed very low negative correlations with ABTS ($r=-0.15$) and FRAP ($r=-0.26$). These results imply that the antioxidant activity in paprika was largely affected by the total polyphenol content but was hardly affected by the ASTA value. Accessions 30, 31, and 56 were selected with high red pigment content, and accessions 5, 21, 24, and 26 had high antioxidant activity as well as high polyphenol content. These germplasms will be useful for the development of new paprika varieties with high red pigment content or high antioxidant activity.

Keywords antioxidant, ASTA, genetic resource, paprika, polyphenol

Received on February 19, 2021. Revised on April 20, 2021. Accepted on May 3, 2021.

* Corresponding Author (E-mail: ajfall@jbnu.ac.kr, Tel: +82-63-270-2560, Fax: +82-63-270-2581)

서 언

파프리카(*Capsicum annuum* L.)는 유럽에서 모든 고추를 통칭하는 말로, 국내에서는 착색단고추를 지칭한다(Lee et al. 2011). 1990년대 국내에 고부가가치 작물로 도입된 파프리카는 점차 재배면적이 확대되어 2019년 국내 파프리카 재배면적은 728 ha였고 생산량은 80,770 톤에 달했다(KOSIS 2019). 생산된 파프리카의 수출량과 국내소비량이 지속적으로 증가하고 있으므로 향후 국내 파프리카의 재배면적 또한 증가할 것으로 기대된다(Kim et al. 2018). 하지만 국내에서 재배되고 있는 파프리카 종자는 대부분 수입에 의존하고 있는 실정이다(KOSA 2020).

호기성 세포의 대사 결과 생성되는 자유라디칼(free radical)은

강력한 산화제(oxidants)로서 DNA와 같은 생물학적 분자구조를 손상시켜서 인간에게 심혈관질환이나 암, 알츠하이머 등의 다양한 질병을 유발한다(Kander et al. 2017, Poprac et al. 2017). 다양한 과일과 채소에 함유된 항산화물질(antioxidants)을 섭취하였을 때 이러한 질병들의 발병률이 줄어든다는 보고들이 있다(Liu 2003). 식물화합물(phytochemicals) 중 항산화 활성을 가지고 있는 대표적 물질에는 플라보노이드(flavonoids)를 포함하는 폴리페놀(polyphenols), 테르페노이드(terpenoids)의 한 종류인 카로티노이드(carotenoids), 비타민 C로 알려져 있는 아스코르브산(ascorbic acid) 등이 있다(Carocho et al. 2018). 파프리카에도 폴리페놀, 카로티노이드, 비타민 C 등이 함유되어 있어 높은 항산화 효과가 있다고 알려져 있다(Marin et al. 2004, Deepa

et al. 2006, Kim et al. 2011, Chávez-Mendoza et al. 2015).

폴리페놀은 플라보노이드, 페놀산(phenolic acids), 리그난(lignans), 스틸빈(stilbenes) 등을 포함하는 식물화합물의 한 그룹으로 다수의 하이드록실기(-OH)를 가지고 있는 것이 큰 특징이며 대표적인 항산화제로 알려져 있다(Fraga et al. 2019). 이를 다량 함유하고 있는 음식의 장기간 복용 시, 비만, 신경퇴행병, 심혈관질환, 2형 당뇨병, 암 등을 예방하는 데에 효과가 있을 뿐만 아니라 인지 능력을 향상시키는 데에도 효과가 있다(Rasouli et al. 2017, Cory et al. 2018, Fraga et al. 2019). 파프리카에서도 폴리페놀 함량을 분석한 연구가 다수 보고되었다(Materska 2014, Hallmann et al. 2019, Papathanasiou et al. 2021).

카로티노이드는 과색을 결정하는 지용성 색소로, 식물의 보조 색소 역할 뿐만 아니라, 항산화제 역할도 한다(Bartley & Scolnik 1995, Krinsky 2001, Cazzonelli 2011, Rodriguez-Concepcion et al. 2018). 색상별 파프리카의 주요 카로티노이드로, 적색 파프리카에는 캡산틴(capsanthin)과 캡소루빈(capsorubin)이, 주황색 파프리카엔 베타카로틴(β -carotene)과 제아잔틴(zeaxanthin)이, 노란색 파프리카엔 비올라잔틴(violaxanthin)과 루테인(lutein)이 다량 존재하는 것으로 보고되었다(Hermanns et al. 2020).

파프리카의 폴리페놀과 카로티노이드 함량에 관한 연구 및 항산화 활성에 대한 연구는 다수 수행되었지만, 이들의 상관관계에 대한 연구는 부족한 실정이다(Marín et al. 2004, Deepa et al. 2006, Kim et al. 2011, Martí et al. 2011, Chávez-Mendoza et al. 2015). 그리고 파프리카 과색별(적색, 주황색, 노란색 및 녹색)로 총 폴리페놀 함량과 항산화 활성을 분석하였는데, 적색 과에서 가장 높았다(Sun et al. 2007).

따라서, 본 연구에서는 적색 파프리카 상용품종 및 유전자원에 대해 항산화 활성, 총 폴리페놀 함량 및 적색소 함량을 분석하여 그 활성 또는 함량의 분포를 알아보고, 이들의 상관관계를 분석하고자 하였다. 그리고 고기능성 파프리카 품종 개발에 활용할 수 있는 파프리카 유전자원을 선발하고자 하였다.

재료 및 방법

식물 재료

본 실험에 사용된 공시재료는 7개의 적색 파프리카 상용품종과 86개의 적색 파프리카 유전자원으로, 전라북도 군산시 대야면(35.9°N, 126.8°E)에 소재한 전북농업기술원 과채류연구소(파프리카 시험장) 비닐온실(온실측고 5.5 m)에서 재배하였다(Supplementary Table 1). 정식은 2020년 4월 17일 실시하였으

며, 정식하기 전 온실 소독을 실시하였다. 코코피트 슬라브는 정식 2일 전, 네덜란드 온실작물연구소 PBG 처방양액(EC 2.5 dS · m⁻¹, pH 5.5)을 이용하여 충분히 포습시켰다. 재배 중에는 복합환경조절 시스템(Priva, Inc., De Lier, Netherlands)을 이용하여 양액을 일정하게 관리하였고(EC 2.8~3.0 dS · m⁻¹, pH 5.5~5.8), 일출 약 2시간 후부터 일몰 약 2시간 전까지 누적 일사량이 100 J · cm⁻²일 때 주당 100 mL 정도의 배양액을 공급하도록 조절하였으며 배지 내 근권 함수율은 60~65% 내외가 되도록 관리하였다. 수확은 착색이 완료된 8월 20일에 실시하였으며, 개체당 3개의 과실을 수확하여 태좌와 종자를 제외한 과피만 동결건조 후 -20℃에서 냉동보관 하였다.

파프리카 과피 추출물 제작

동결건조 시료에 80% 메탄올을 가하여, 50℃의 암조건에서 shaking incubator (Bionex, Inc., Bucheon-si, Korea)를 이용하여 1시간 동안 추출하였다. 추출물은 원심분리 후 0.22 μ m syringe filter (Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, Massachusetts, USA)로 여과하였다. 총 폴리페놀 함량 분석 시에는 0.12 g · 10 mL⁻¹의 추출물을 사용하였고, 항산화 활성 분석 시에는 0.04 g · 10 mL⁻¹의 추출물이 사용되었다.

총 폴리페놀 함량 분석(TPC)

총 폴리페놀 함량 분석(TPC, total polyphenol content)는 Singleton & Rossi (1965)의 방법을 변형하여 분석하였다. 추출물 200 μ l에 3차 증류수(TDW, triple distilled water) 600 μ l를 분주 후, folin-ciocalteu reagent 200 μ l를 분주하여 3분간 반응시켰다. 그 후 15% sodium carbonate (Na₂CO₃) 200 μ l를 분주 후 교반하여 1시간 동안 상온에서 암반응 처리하였다. 반응이 끝난 추출물을 원심분리 후 상층액 200 μ l를 96 well microplate에 분주하였다. 반응액의 흡광도는 760 nm에서 microplate spectrophotometer Epoch (BioTek Instruments, Inc., Winooski, Vermont, USA)를 이용하여 측정하였다. 표준물질은 gallic acid (Sigma-Aldrich, Ins., St. Louis, Missouri, USA)를 사용하여 검량선을 그렸으며, 총 폴리페놀 함량은 mg GAE · g⁻¹ DW로 표시하였다(Supplementary Fig. 1).

항산화 활성 분석(ABTS assay)

항산화 활성 분석[ABTS assay, 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) 라디칼(radical) 소거 활성능 분석]은 Thiapong et al. (2006)의 방법을 변형하여 수행하였다. 7.4 mM

의 ABTS 시약과 2.45 mM의 potassium persulphate 시약을 1:1 비율로 섞어 상온, 암조건에서 12시간 이상 반응시켜 양이온 라디칼을 형성시켰다. 반응이 끝난 시약 10 ml을 100% 메탄올 200 ml로 희석시켜 양이온 라디칼 희석액을 만들었다. 추출물 50 μ l에 희석액 950 μ l를 분주 후, 상온 암조건에서 1시간 동안 반응시켜 96 well microplate에 200 μ l씩 분주하였다. 흡광도는 734 nm에서 microplate spectrophotometer Epoch (BioTek Instruments, Inc., Winooski, Vermont, USA)를 이용하여 측정하였다. 표준물질은 비타민E의 전구체인 trolox (Sigma-Aldrich, Ins., St. Louis, Missouri, USA)를 사용하여 검량선을 그렸으며, ABTS 라디칼 소거 활성능은 mg trolox $\cdot$ g⁻¹ DW로 표시하였다 (Supplementary Fig. 1).

항산화 활성 분석(FRAP assay)

항산화 활성 분석(FRAP assay, ferric reducing antioxidant power)은 Thiapong et al. (2006)의 방법을 변형하여 수행하였다. Sodium acetate trihydrate 620 mg과 acetic acid 3.2 ml를 섞고 3차 증류수를 사용하여 총량을 200 ml로 만든 후 pH를 3.6으로 맞추어 A 시약을 만들었다. B 시약은 40 mM의 HCl 50 ml에 2,4,6-tri(2-pyridyl)-s-triazine 156.16 mg 넣어 10 mM로 만들었다. C 시약은 20 ml의 3차 증류수에 iron(III) chloride hexahydrate 108.12 mg을 분주하여 20 mM로 만들었다. A, B, C 시약을 각각 10:1:1 비율로 섞은 후, 37°C 조건에서 30분간 안정시켰다. 추출물 50 μ l에 안정화된 시약을 950 μ l 분주하여 충분히 교반한 후 96 well microplate에 200 μ l씩 분주하였다. 흡광도는 593 nm에서 microplate spectrophotometer Epoch (BioTek Instruments, Inc., Winooski, Vermont, USA)를 이용하여 측정하였다. 표준물질인 trolox (Sigma-Aldrich, Ins., St. Louis, Missouri, USA)를 사용하여 검량선을 그렸으며, 시료의 환원력은 mg trolox $\cdot$ g⁻¹ DW로 표시하였다(Supplementary Fig. 1).

총 적색소 함량 분석(ASTA assay)

총 적색소 함량 분석(ASTA assay, American spice trade association)은 Hong et al. (2013)의 방법을 변형하여 수행하였다. 동결건조 시료 0.1 g을 아세톤(acetone) 10 ml과 섞고, 상온 암소에서 16시간 동안 교반하였다. 교반이 끝난 후, 4000 rpm으로 원심분리하여 상층액 100 μ l를 식용유 900 μ l에 분주하여 충분히 교반하였다. 그 후 96 well microplate에 200 μ l씩 분주하여 microplate spectrophotometer Epoch (BioTek Instruments, Inc., Winooski, Vermont, USA)를 이용하여 460 nm에서 흡광도

를 측정하였다. ASTA 값은 아래 계산식을 통해 계산된 값을 사용하였다.

$$\text{ASTA value} = A_{460\text{nm}} \times 16.4 / \text{sample weight (g)}$$

통계 분석

분석은 개체당 3개의 파프리카 과실을 수확하여 과피만을 동결건조한 후 마쇄하여 technical repeat으로 3반복 수행하였다. 통계 분석은 R studio (ver. 4.0.3)를 이용하여 Pearson's correlation coefficient를 기반으로 한 상관관계 분석을 수행하였다. 상관관계 그림은 R program의 'PerformanceAnalytics' 패키지를 사용하여 그렸다(Peterson et al. 2020).

결과 및 고찰

총 폴리페놀 함량

파프리카에 함유된 폴리페놀은 높은 항산화 효과를 가지고 있다(Papathanasiou et al. 2021). 7개의 적색 파프리카 상용 F₁ 품종과 86개의 적색 파프리카 유전자원에 대해 총 폴리페놀 함량을 분석한 결과, 6.35~11.84 mg GAE $\cdot$ g⁻¹ DW 사이에서 연속적인 분포를 보였다(Fig. 1A). 상용품종의 경우, 총 폴리페놀 함량이 8.05~11.50 mg GAE $\cdot$ g⁻¹ DW 사이에서 분포하였는데, 평균 함량은 9.38 mg GAE $\cdot$ g⁻¹ DW이었다(Supplementary Table 2). 그중 'Hera Red'의 총 폴리페놀 함량이 11.50 mg GAE $\cdot$ g⁻¹ DW로 가장 높았다. 상용품종 'Hera Red' 보다 총 폴리페놀 함량이 높았던 유전자원은 4번과 5번으로 각각 11.68과 11.84 mg GAE $\cdot$ g⁻¹ DW의 함량을 보였다(Fig. 1A). 이 두 유전자원은 IT235549에서 파생된 유전자원인 것으로 확인되었으며(Supplementary Table 1), 동일한 IT235549에서 파생된 6번 개체의 경우 총 폴리페놀 함량이 9.48 mg GAE $\cdot$ g⁻¹ DW으로 4번과 5번보다 낮은 함량을 보였다(Fig. 1A). 이는 유전자원이 순계로 고정되어 있지 않기 때문에 분리한 것으로 보인다. Papathanasiou et al. (2021)은 3개의 파프리카 품종을 이용하여 과실의 발달 단계별로 총 폴리페놀 함량을 분석하였는데, 345.2~2220.3 μ g GAE $\cdot$ g⁻¹ FW 사이에서 분포하였다. 본 연구에서는 건과(dry weight)를 사용했고 Papathanasiou et al. (2021) 연구에서는 생과(fresh weight)를 사용해서 직접적으로 총 폴리페놀 함량을 비교할 수는 없었다. 파프리카의 다양한 폴리페놀은 phenylpropanoid pathway를 통해 합성된다(Vogt 2010). 폴리페놀의 함량은 pathway상의 다양한 생합성유전자에 의해 조절된

다고 알려져 있다(Lemos et al. 2019). 생합성 유전자 외에도 MYB와 같은 전사인자에 의해서도 폴리페놀의 함량이 조절된다는 보고가 있었다(Liu et al. 2015). 따라서 본 연구에서 파프리카의 총 폴리페놀 함량이 연속적으로 분포하였던 이유는 다양한 생합성유전자 또는 MYB 전사인자의 기능 차이에 의한 것으로 생각된다. 본 연구에서 분석된 결과를 바탕으로 총 폴리페놀 함량이 높은 자원(5번, 11.84 mg GAE · g⁻¹ DW)과 낮은 자원(52번, 6.35 mg GAE · g⁻¹ DW)을 양친으로 분리집단을 육성하여 QTL 분석을 수행한다면 총 폴리페놀 함량을 조절하는 유전자좌를 탐색할 수 있을 것이다(Supplementary Table 2).

항산화 활성

라디칼 분자들의 산화작용을 방지하는 능력을 항산화 활성이라고 하며(Carocho et al. 2018), 물질에 따라서 항산화 기작이 다양하므로 항산화 활성을 포괄하여 평가하기 위해서는 여러가지 방법을 사용하여야 한다(Roginsky & Lissi 2005). ABTS 분석법은 라디칼 소거능을 평가하는 방법으로, potassium persulfate와 ABTS 시약이 반응하여 생성된 청록색의 양이온 라디칼이 소거될 때의 흡광도를 측정하여 시료의 항산화 활성을 평가하는 방법이다(Re et al. 1999). 이때 생성된 양이온 라디칼은 물과 유기용매 모두에 용해되므로 극성 시료와 비극성 시료의 항산화능 측정에 모두 사용할 수 있다(Boligon et al. 2014). 또한 ABTS 분석법은 시료의 pH에 영향을 받지 않으므로 다양한 시료에서 광범위하게 적용할 수 있다는 장점이 있어 항산화능 측정에 주로 사용된다(Lemańska et al. 2001, Boligon et al. 2014). FRAP 분석법은 환원력을 분석하는 방법으로, Fe³⁺에서 환원된 Fe²⁺이 TPTZ (2,4,6-tri(2-pyridyl)-s-triazine)와 결합하여 형성된 청자색 복합체의 흡광도를 측정함으로써 시료의 항산화 활성능을 평가할 수 있다(Roginsky & Lissi 2005). 이러한 화합물의 환원능력은 항산화 활성의 중요한 지표가 될 수 있다(Meir et al. 1995). 특히 FRAP 분석법이 고추의 페놀성 물질의 항산화 활성을 평가하는데 적합하다는 보고가 있었다(Sora et al. 2015). ABTS와 FRAP 분석법은 항산화 활성도 측정에 많이 사용되고 있는 방법이다(Rebelatto et al. 2020). ABTS 분석에 의한 항산화 활성은 19.80~44.84 mg trolox · g⁻¹ DW 사이에서 연속적인 분포를 보였다(Fig. 1B). 상용품종 중에서는 ‘Hera Red’의 항산화 활성이 33.53 mg trolox · g⁻¹ DW로 가장 높았다(Fig. 1B). ‘Hera Red’ 보다 높은 항산화 활성을 보였던 유전자원은 31개가 있었는데(Fig. 1B), 그중 42번(44.84 mg trolox · g⁻¹ DW), 30번(43.36 mg trolox · g⁻¹ DW) 및 44번(42.77 mg trolox · g⁻¹ DW)

의 항산화 활성이 가장 높았다(Supplementary Table 2). 가장 높은 항산화 활성을 보인 42번과 44번은 IT261230에서 파생된 유전자원이었다(Supplementary Table 1).

FRAP 분석에 의한 항산화 활성 또한 8.82~31.06 mg trolox · g⁻¹ DW 사이에서 연속적인 분포를 보였는데(Fig. 1C), 상용품종 중에서는 ‘Hera Red’의 항산화 활성이 21.88 mg trolox · g⁻¹ DW로 가장 높았다(Fig. 1C). ‘Hera Red’ 보다 높은 항산화 활성을 보였던 유전자원은 16개였으며, 그중 26번(31.56 mg trolox · g⁻¹ DW), 5번(27.42 mg trolox · g⁻¹ DW) 및 25번(26.83 mg trolox · g⁻¹ DW) 순으로 항산화 활성이 높았다(Supplementary Table 2). 가장 높은 항산화 활성을 보인 25번과 26번은 IT236921에서 파생된 유전자원이었다(Supplementary Table 1). 본 연구에서 사용된 적색 파프리카 유전자원들의 항산화활성능이 연속적인 분포를 보였던 이유는 파프리카는 phenolic compounds, flavonoids, carotenoids, tocopherol 및 ascorbic acid를 포함한 다양한 종류의 항산화 물질을 함유하고 있고 각 물질의 함량이 각기 다르기 때문인 것으로 생각된다(Marín et al. 2004, Deepa et al. 2006, Kim et al. 2011, Chávez-Mendoza et al. 2015).

총 적색소 함량

ASTA value는 국제적으로 향신료의 붉은색 정도를 정량화하는 지표로 사용되고 있다(Krajayklang et al. 2000). ASTA value는 총 카로티노이드 함량과 양의 상관관계가($r=0.675$)있으며, 그중 캡산틴(capsanthin)의 함량과 높은 양의 상관관계($r=0.723$)가 있다는 선행연구가 보고되었다(Yoon et al. 2015). 본 연구에서는 적색소 고함량 유전자원을 선별하기 위해 ASTA 분석을 수행하였다. 그 결과, ASTA value는 5.30~75.03 사이에서 넓게 분포하였으며 연속적인 변이를 보였다(Fig. 1D). 상용품종 중에서 ‘Nagano RZ’의 ASTA value가 33.73으로 가장 높았다(Supplementary Table 2). ‘Nagano RZ’ 보다 높은 ASTA value를 보였던 유전자원은 44개가 있었는데, 그중 30번(75.03), 56번(68.99) 및 31번(65.41) 순으로 ASTA value가 가장 높았다(Fig. 1D). 본 연구에서 분석된 파프리카의 ASTA value (5.30~75.03)는 기 보고된 건고추의 ASTA value (85.6~183.4)보다 많이 낮은 값을 보였다(Choi et al. 2000). 이러한 결과는 과실의 수확시기, 건조상태 및 수확 후 저장기간 등의 차이 때문인 것으로 생각된다. 성숙과정에서 카로티노이드는 지방산과 결합하여 에스테르화(esterification)되는데, 에스테르 형태의 카로티노이드는 세포내 축적률이 높기 때문에 과의 성숙이 진행될수록 카로티노이드

Fig. 1. Distribution of total phenol content (A), antioxidant activity by ABTS (B) and FRAP (C) assays, and total red pigment content by ASTA assay (D) in 86 accessions and 7 commercial cultivars of red paprika. The gray and black bars indicate germplasms and commercial cultivars, respectively. Each vertical bar represents the standard deviation of three replications.

함량은 급격히 높아진다(Berry et al. 2019). 또한 수확 후 건조 과정에도 카로티노이드 함량이 증가한다는 보고가 있었다(Homero-Méndez & Mínguez-Mosquera 2000). 본 실험에 사용된 시료의 유전적 조성이 다양하였기 때문에 총 적색소 함량 또한 연속적인 분포를 보였을 것으로 생각된다(Supplementary Table 2). 파프리카의 과색은 다양한 카로티노이드의 비율에 의해 결정되며, 적색을 나타내는 대표적인 색소물질은 캡산틴(capsanthin)과 캡소루빈(capsorubin)으로 알려져 있다(Deli et al. 2001, Hermanns et al. 2020). 선행연구에 따르면 유전형이 *psyl/psyl*, *CCS/-*의 경우, *PSY2*에 의해 파이토엔(phytoene)이 합성되어 최종적으로 소량의 캡산틴(capsanthin)이 합성된다는 보고가 있었는데, 본 연구에서 ASTA value가 특히 낮았던 일부 유전자원(42번과 43번)의 경우, 유전형이 *psyl/psyl*, *CCS/-* 일 수 있을 것으로 생각된다(Jang et al. 2020).

상관관계 분석

본 연구에서 86개의 적색 파프리카 유전자원과 7개의 적색 파프리카 상용품종에 대해 총 폴리페놀 함량(TPC), 항산화 활성(ABTS와 FRAP) 및 총 적색소 함량(ASTA)을 모두 분석하였는데(Supplementary Table 2), 그 결과를 이용하여 상관관계를 분석하였다. TPC는 ABTS 및 FRAP와 각각 높은 양의 상관관계

를($r=0.69$ 및 $r=0.75$) 보였는데, $p<0.001$ 수준에서 유의하였다(Fig. 2). 이러한 결과는 파프리카에 함유된 총 폴리페놀 함량이 항산화 활성과 높은 상관관계를 보였다는 선행결과와 일치하였다(Sun et al. 2007, Carvalho et al. 2015).

카로티노이드는 높은 항산화 활성을 가지고 있다고 보고되었지만(Matsufuji et al. 1998), 본 연구에서 ASTA는 ABTS 및 FRAP와 각각 낮은 음의 상관관계($r=-0.15$ 및 $r=-0.26$)를 보였는데, ASTA와 FRAP 사이에서만 $p<0.05$ 수준에서 유의하였다(Fig. 2). 이러한 결과는 파프리카에 함유된 카로티노이드의 상대적 함량이 다른 항산화물질들에 비해 매우 낮기 때문인 것으로 생각된다. 기 보고된 연구에서 파프리카의 총 카로티노이드 함량은 $69.44\pm4.25 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \text{ DW}$ 로 총 폴리페놀 함량($731.75\pm37.25 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \text{ DW}$)과 L-ascorbic acid 함량($1,987.25\pm19.64 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \text{ DW}$)에 비해 매우 적었다(Kim et al. 2011). 따라서, 파프리카에 함유된 카로티노이드는 다른 항산화물질에 비해 미량으로 존재하므로 항산화 활성에 크게 영향을 미치지 못했던 것으로 생각된다.

고기능성 파프리카 유전자원 선별

상관관계 분석 결과, 항산화 활성과 총 폴리페놀 함량은 높은 양의 상관관계를 보였던 반면, ASTA value와는 낮은 음의 상관

Fig. 2. Overall correlation coefficients and distributions among antioxidant activity (ABTS and FRAP), total polyphenol content (TPC), and red pigment content (ASTA) in 86 germplasms and 7 commercial cultivars of red paprika. Red asterisk(s) *, **, and *** indicate the significance at the levels of $p<0.05$, $p<0.01$, and $p<0.001$, respectively.

Table 1. Summary of the red paprika germplasms with the high antioxidant activity/total polyphenol content or the high total red pigment content.

Individual No.	Accession No.	Total polyphenol content	Antioxidant activity		Total red pigment content	Selected trait
		TPC (mg GAE·g ⁻¹ DW)	ABTS (mg trolox·g ⁻¹ DW)	FRAP (mg trolox·g ⁻¹ DW)	ASTA (value)	
5	IT235549	11.84±0.52 ²	34.58±1.98	27.42±1.85	21.68±0.38	high antioxidant activity and TPC
21	IT236845	10.99±0.23	38.48±1.43	26.13±0.07	26.62±1.78	high antioxidant activity and TPC
24	IT236921	9.88±0.54	40.22±0.72	23.80±1.08	22.50±1.05	high antioxidant activity and TPC
26	IT236921	10.46±0.62	38.31±1.12	31.06±1.05	24.14±2.63	high antioxidant activity and TPC
30	IT237292	10.10±0.19	43.36±0.32	21.77±0.40	75.03±3.21	high red pigment content
31	IT242337	8.68±0.09	36.00±0.30	14.97±0.17	65.41±0.78	high red pigment content
56	IT261288	9.00±0.31	34.74±0.50	13.50±0.69	68.99±0.95	high red pigment content

²Values are mean±SD of three replications.

관계를 보였다(Fig. 2). 이는 항산화 고활성이면서 적색소 고함량인 파프리카 유전자원이 없다는 것을 의미한다. 따라서 이 두 가지 형질을 독립적으로 선발할 필요가 있다. 적색소 고함량 유전자원으로 ASTA value가 높았던 30번, 31번 및 56번을 선발하였고, 항산화 고활성 유전자원으로 ABTS 라디칼 소거능, FRAP 환원력 및 총 폴리페놀 함량이 모두 높았던 5번, 21번, 24번 및 26번을 선발하였다(Table 1). 본 연구를 통해 선발된 유전자원은 항산화 고활성 또는 적색소 고함량 파프리카 품종 개발 시 육종소재로 활용될 수 있을 것이다.

적 요

파프리카의 과색과 기능성은 소비기호를 결정하는 중요한 요인 중 하나로, 파프리카에는 과색을 결정하는 다양한 카로티노이드(carotenoids)와 항산화 활성이 높다고 알려진 폴리페놀(polyphenols) 등의 파이토케미컬(phytochemical)이 다량 함유되어 있다. 본 연구에서는 총 93개의 적색 파프리카 상용품종(7개) 및 유전자원(86개)에 대해 TPC 분석에 의한 총 폴리페놀 함량, ABTS와 FRAP 분석에 의한 항산화 활성 및 ASTA 분석에 의한 총 적색소 함량을 평가하였다. 그 결과, 총 폴리페놀 함량, ABTS와 FRAP 항산화 활성 및 총 적색소 함량은 각각 6.35~11.84 mg GAE·g⁻¹ DW, 19.80~44.84 mg trolox·g⁻¹ DW, 8.82~31.06 mg trolox·g⁻¹ DW 및 5.30~75.03 ASTA value 사이에서 연속적인 분포를 보였다. 또한 각각의 형질에서 가장 높았던 상용품종보다 더 높은 값을 가진 유전자원은 각각 2, 31, 16 및 44개체가 있었다. 또한 상관관계 분석 결과, TPC와 ABTS 및 FRAP 사이에서 각각 $r=0.69$ 및 $r=0.75$ 로 유의성

있는 높은 양의 상관관계를 보였다. 반면에 ASTA와 ABTS 및 FRAP 사이에서는 각각 $r=-0.15$ 및 $r=-0.26$ 로 낮은 음의 상관관계를 보였다. 이러한 결과는 파프리카의 항산화 활성이 총 폴리페놀 함량에 의해 큰 영향을 받았으나 총 적색소 함량에는 미미한 영향을 받았다는 것을 의미한다. 적색소 고함량 유전자원으로 ASTA value가 높았던 30번, 31번 및 56번 개체를 선발하였고, 항산화 고활성 유전자원으로 ABTS와 FRAP 항산화 활성 및 총 폴리페놀 함량이 모두 높았던 5번, 21번, 24번 및 26번 개체를 선발하였다. 본 연구를 통해 선발된 유전자원은 적색소 고함량 또는 항산화 고활성 파프리카 신품종 개발시 육종소재로 활용될 수 있을 것이다.

사 사

본 논문은 농촌진흥청 농업과학기술 연구개발사업(세부과제 번호: PJ01479201)의 지원에 의해 이루어진 것임.

보충자료

본문의 Supplementary Table 1과 Supplementary Table 2, Supplementary Fig. 1은 한국육종학회지 홈페이지에서 확인할 수 있습니다.

REFERENCES

- Bartley GE, Scolnik PA. 1995. Plant carotenoids: pigments for photoprotection, visual attraction, and human health. *Plant Cell* 7: 1027-1038.

2. Berry HM, Rickett DV, Baxter CJ, Enfissi EMA, Fraser PD. 2019. Carotenoid biosynthesis and sequestration in red chilli pepper fruit and its impact on colour intensity traits. *J Exp Bot* 70: 2637-2650.
3. Boligon AA, Machado MM, Athayde ML. 2014. Technical evaluation of antioxidant activity. *Med Chem* 4: 517-522.
4. Carochio M, Morales P, Ferreira ICFR. 2018. Antioxidants: Reviewing the chemistry, food applications, legislation and role as preservatives. *Trends Food Sci Tech* 71: 107-120.
5. Carvalho AV, de Andrade Mattietto R, de Oliveira Rios A, de Almeida Maciel R, Moresco KS, de Souza Oliveira TC. 2015. Bioactive compounds and antioxidant activity of pepper (*Capsicum* sp.) genotypes. *J Food Sci Technol* 52: 7457-7464.
6. Cazzonelli CI. 2011. Carotenoids in nature: insights from plants and beyond. *Funct Plant Biol* 38: 833-847.
7. Chávez-Mendoza C, Sanchez E, Muñoz-Marquez E, Sida-Arreola JP, Flores-Cordova MA. 2015. Bioactive compounds and antioxidant activity in different grafted varieties of bell pepper. *Antioxidants* 4: 427-446.
8. Choi SM, Jeon YS, Park KY. 2000. Comparison of quality of red pepper powders produced in Korea. *Korean J Food Sci Technol* 32: 1251-1257.
9. Cory H, Passarelli S, Szeto J, Tamez M, Mattei J. 2018. The role of polyphenols in human health and food systems: a mini-review. *Front Nutr* 5: 87.
10. Deepa N, Kaur C, Singh B, Kapoor HC. 2006. Antioxidant activity in some red sweet pepper cultivars. *J Food Compos Anal* 19: 572-578.
11. Deli J, Molnár P, Matus Z, Tóth G. 2001. Carotenoid composition in the fruits of red paprika (*Capsicum annuum* var. *lycopersiciforme rubrum*) during ripening; biosynthesis of carotenoids in red paprika. *J Agric Food Chem* 49: 1517-1523.
12. Fraga CG, Croft KD, Kennedy DO, Tomás-Barberán FA. 2019. The effects of polyphenols and other bioactives on human health. *Food Funct* 10: 514-528.
13. Hallmann E, Marszałek K, Lipowski J, Jasińska U, Kazimierczak R, Średnicka-Tober D, Rembiałkowska E. 2019. Polyphenols and carotenoids in pickled bell pepper from organic and conventional production. *Food Chem* 278: 254-260.
14. Hermanns AS, Zhou X, Xu Q, Tadmor Y, Li L. 2020. Carotenoid pigment accumulation in horticultural plants. *Hortic Plant J* 6: 343-360.
15. Hong SC, Han JH, Lee J, Ahn YK, Yang EY, Chae SY, Kim S, Yoon JB. 2013. A simple and fast microplate method for analysis of carotenoids content in chili pepper (*Capsicum annuum* L.). *Hort Sci Technol* 31: 807-812.
16. Homero-Méndez D, Mínguez-Mosquera MI. 2000. Xanthophyll esterification accompanying carotenoid overaccumulation in chromoplast of *Capsicum annuum* ripening fruits is a constitutive process and useful for ripeness index. *J Agric Food Chem* 48: 1617-1622.
17. Jang SJ, Jeong HB, Jung A, Kang MY, Kim S, Ha SH, Kwon JK, Kang BC. 2020. *Phytoene synthase 2* can compensate for the absence of *PSY1* in the control of color in *Capsicum* fruit. *J Exp Bot* 71: 3417-3427.
18. Kander MC, Cui Y, Liu Z. 2017. Gender difference in oxidative stress: A new look at the mechanisms for cardiovascular diseases. *J Cell Mol Med* 21: 1024-1032.
19. Kim JS, Ahn J, Lee SJ, Moon B, Ha TY, Kim S. 2011. Phytochemicals and antioxidant activity of fruits and leaves of paprika (*Capsicum annuum* L., var. *Special*) cultivated in Korea. *J Food Sci* 76: C193-C198.
20. Kim SS, Lee IK, Wi TS, Jeong JW. 2018. Changes in consumption behavior on paprika and farmers' countermeasures. *Korean J Food Marketing Econ* 35: 119-140.
21. KOSA. 2020. Korean Seed Association. <http://kosaseed.or.kr/>. Accessed 12 January, 2021.
22. KOSIS. 2019. Korean Statistical Information Services. <http://kosis.kr/>. Accessed 7 January, 2021.
23. Krajayklang M, Klieber A, Dry PR. 2000. Colour at harvest and post-harvest behavior influence paprika and chilli spice quality. *Postharvest Biol Tec* 20: 269-278.
24. Krinsky NI. 2001. Carotenoids as antioxidants. *Nutrition* 17: 815-817.
25. Lee J, Do JW, Han JH, An CG, Kweon OY, Kim YK, Yoon JB. 2011. Allelism and molecular marker tests for genic male sterility in paprika cultivars. *Kor J Hort Sci Technol* 29: 130-134.
26. Lemańska K, Szymusiak H, Tyrakowska B, Zieliński R, Soffers AEMF, Rietjens IMCM. 2001. The influence of pH on antioxidant properties and the mechanism of antioxidant action of hydroxyflavones. *Free Radical Biol Med* 31: 869-881.
27. Lemos VC, Reimer JJ, Wormit A. 2019. Color for life: biosynthesis and distribution of phenolic compounds in pepper (*Capsicum annuum*). *Agriculture* 9: 81.
28. Liu J, Osbourn A, Ma P. 2015. MYB transcription factors

- as regulators of phenylpropanoid metabolism in plants. *Mol Plant* 8: 689-708.
29. Liu RH. 2003. Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *Am J Clin Nutr* 78: 517S-520S.
30. Marín A, Ferreres F, Tomás-Barberán FA, Gil MI. 2004. Characterization and quantitation of antioxidant constituents of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). *J Agr Food Chem* 52: 3861-3869.
31. Martí MC, Camejo D, Vallejo, Romojaro F, Bacarizo S, Malma JM, Sevilla F, Jiménez A. 2011. Influence of fruit ripening stage and harvest period on the antioxidant content of sweet pepper cultivars. *Plant Foods Hum Nutr* 66: 416-423.
32. Materska M. 2014. Bioactive phenolics of fresh and freeze-dried sweet and semi-spicy pepper fruits (*Capsicum annuum* L.). *J Funct Food* 7: 269-277.
33. Matsufuji H, Nakamura H, Chino M, Takeda M. 1998. Antioxidant activity of capsanthin and the fatty acid esters in paprika (*Capsicum annuum*). *J Agric Food Chem* 46: 3468-3472.
34. Meir S, Kanner J, Akiri B, Philosoph-Hadas S. 1995. Determination and involvement of aqueous reducing compounds in oxidative defense systems of various senescing leaves. *J Agr Food Chem* 43: 1813-1819.
35. Papathanasiou T, Gougoulas N, Karayannis VG, Kamvoukou C. 2021. Investigation of the total phenolic content and antioxidant capacity of three sweet pepper cultivars (*Capsicum annuum* L.) at different development and maturation stages. *Period Polytech Chem Eng* 65: 219-228.
36. Peterson BG, Carl P, Boudt K, Bennett R, Ulrich J, Zivot E, Cornily D, Hung E, Lestel M, Balissoon K, Wuertz D, Christidis AA, Martin RD, Zhou ZZ, Shea JM. 2020. Package 'PerformanceAnalytics'. R Team Cooperation. Vienna, Austria.
37. Poprac P, Jomova K, Simunkova M, Kollar V, Rhodes CJ, Valko M. 2017. Targeting free radicals in oxidative stress-related human diseases. *Trends Pharmacol Sci* 38: 592-607.
38. Rasouli H, Farzaei MH, Khodarahmi R. 2017. Polyphenols and their benefits: A review. *Int J Food Prop* 20: S1700-S1741.
39. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Bio Med* 26: 1231-1237.
40. Rebelatto EA, Rodrigues LGG, Rudke AR, Andrade KS, Ferreira SRS. 2020. Sequential green-based extraction processes applied to recover antioxidant extracts from pink pepper fruits. *J Supercritical Fluids* 166: 105034.
41. Rodriguez-Concepcion M, Avalos J, Bonet ML, Boronat A, Gomez-Gomez L, Hornero-Mendez D, Limon MC, Meléndez-Martínez AJ, Olmedilla-Alonso B, Palou A, Ribot J, Rodrigo MJ, Zacarias L, Zhu C. 2018. A global perspective on carotenoids: Metabolism, biotechnology, and benefits for nutrition and health. *Prog Lipid Res* 70: 62-93.
42. Roginsky V, Lissi EA. 2005. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chem* 92: 235-254.
43. Singleton VL, Rossi JA. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Viticul* 16: 144-158.
44. Sora GTS, Haminiuk CWI, da Silva MV, Zielinski AAF, Gonçalves GA, Bracht A, Peralta RM. 2015. A comparative study of the capsaicinoid and phenolic contents and in vitro antioxidant activities of the peppers of the genus *Capsicum*: an application of chemometrics. *J Food Sci Technol* 52: 8086-8094.
45. Sun T, Xu, Z, Wu CT, Janes M, Prinyawiwatku W, No HK. 2007. Antioxidant activities of different colored sweet bell peppers (*Capsicum annuum* L.). *J Food Sci* 72: S98-S102.
46. Thaipong K, Boonprakob U, Crosby K, Cisneros-Zevallos L, Byrne DH. 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *J Food Compos Anal* 19: 669-675.
47. Vogt T. 2010. Phenylpropanoid biosynthesis. *Mol Plant* 3: 2-20.
48. Yoon JE, Kim JB, Kim HW, Jang KS, Ko HC, Jang HH, Lee SH, Hwang YJ. 2015. Carotenoid composition and ASTA color value in pepper (*Capsicum annuum* L.) germplasms. *Korean J Breed Sci* 47: 238-244.