

발간등록번호

11-1543000-001649-01

육종 기반 기술 개발
(Development of breeding-based technology)

한국방송통신대학교

농림축산식품부·해양수산부·농촌진흥청·산림청

제 출 문

농림축산식품부장관 · 해양수산부장관 · 농촌진흥청장 · 산림청장 귀하

이 보고서를 “육종 기반 기술 개발” 프로젝트의 보고서로 제출합니다.

2017 년 3 월 31 일

프 로젝트 연구기관명 : 한국방송통신대학교

프 로젝트 책 임 자 : 김 선 아

세부프로젝트 연구기관명 : 한국방송통신대학교

세부프로젝트 책 임 자 : 김 선 아

세부프로젝트 연구기관명 : (주) 유니플랜텍

세부프로젝트 책 임 자 : 윤 여 중

보고서 요약서

과제고유번호	213002-04-4-SBW10	해당 단계 연구 기간	42개월	단계 구분	1/1
연구사업명	단위사업명	채소,원예 : 농식품기술개발(R&D)			
	세부사업명	Golden Seed 프로젝트			
연구과제명	프로젝트명	육종 기반 기술 개발			
	세부 프로젝트명	신품종 개발을 위한 품질 지표 확립 및 검정 기술 개발(한국방송통신대학교/김선아) 육종세대 단축을 위한 소포자 배양 기술 개발 ((주)유니플랜텍/윤여중)			
연구책임자	김선아	해당단계 참여 연구원 수	총: 39명 내부: 16명 외부: 11명	해당단계 연구개발비	정부: 454,000천원 민간: 56,000천원 계: 510,000천원
		총연구기간 참여 연구원 수	총: 39명 내부: 16명 외부: 11명	총연구개발비	정부: 454,000천원 민간: 56,000천원 계: 510,000천원
연구기관명 및 소속부서명	한국방송통신대학교			참여기업명	농업회사법인 (주) 유니플랜텍
위탁연구	연구기관명:			연구책임자:	
<ul style="list-style-type: none"> - 파프리카 유래 카로티노이드 프로파일링 등 국내외저명학술지에 논문 게재(SCI 2건, 비SCI 2건) 및 학술발표를 통해 카로티노이드 분석법 확립 및 검증과 신품종 파프리카의 품질 우수성 홍보 - 파프리카 유래 카로티노이드 분석 위해 시료 전처리, 추출, 획, 검화, 분석, 검증에 이르는 단계별 표준 분석법 제시 - 파프리카의 관능평가위해 패널 선정, 시료처리, 관능지표 및 평가도구, 통계처리법 등 표준평가법 제시 - 신품종 스크리닝 통해 제아잔틴이 풍부한 적색파프리카로 독특한 카로티노이드 프로파일을 갖는 품종 발굴 - 조직배양 식물체의 대량순화 시설물 특허출원 (출원번호 10-2016-0168338) - 자원분양(약배양 유래 31계통) 및 DH line 분양(약배양 및 shed culture 296개 약으로부터 유래된 541개 식물체 분양) 				보고서 면수 229	

요 약 문

I. 제 목

프로젝트 : 육종 기반 기술 개발

세부프로젝트 : 신품종 개발을 위한 품질 지표 확립 및 검정 기술 개발

세부프로젝트: 육종세대 단축을 위한 소포자배양 기술개발

II. 연구성과 목표 대비 실적

구분	품종 개발		특허		논문		S O P	성분 분석	유전 자원		DH 계통 개발	자원 분양	기술 이전	마케팅 전략 수립보고서	인력 양성
	출원	등록	출원	등록	SCI	비SCI			수집	등록					
최종목표			1		1	3	2	200			500	30			2
1차년도								60	14			10			1
2차년도						1		102	13			21			
3차년도					1	1		200			229				1
4차년도			1		1			600			312				
합 계			1		2	2	2	962	27		541	31			2

III. 연구개발의 목적 및 필요성

- 파프리카는 과육이 두터워 식감이 뛰어나고 단맛과 신맛의 조화로 고유의 풍미를 지니며 비타민, 무기질, phytochemicals 등 영양적 가치가 우수하며 색상이 다양하여 생과뿐만 아니라 조리 후 음식의 색감을 향상시키는 식재료로 주목받고 있다.
- 국내 파프리카 주요 생산지는 경남, 강원, 전북과 전남의 순이며 경남의 파프리카 재배면적은 전국의 35%를 차지하고 생산량의 50%이상을 수출하고 있다. 파프리카는 시설재배로 단위면적당 소득이 높아 재배면적과 생산량이 지속적으로 증가하는 작물이다. 우리나라는 파프리카는 과경이 9~10 cm인 블로키타입이 주로 유통되고 있으며, 소비자의 다양한 요구에 부합하기 위한 품종개량의 노력으로 먹기 좋은 한입 크기(20~40g)의 코니컬 타입의 미니파프리카 재배량이 크게 증가하고 있다.
- 2011년 이후 세계 경제침체와 함께 일본 수출이 둔화되기 시작하였으나 2000년부터 2015년까지의 통계를 살펴보면 재배면적, 생산량, 수출량, 수출액 모두 증가한 것으로 나타났고, 2015년 총재배면적은 2000년 1대비 재배면적 707ha, 생산량 73,000여톤, 수출액 8,520만불로 모두 증가하는 경향을 보였다. 그중에서 내수비중은 2000년 9% 대비 2015년 60%까지 급격히 증가하는 경향을 보였다.

- 재배 품종 특성을 살펴보면, 현재 파프리카 품종은 유럽 및 미국의 다국적 기업으로부터 전량 수입되고 있으며 ha 당 종자 구입비는 약 19,500 천원으로 추정되어 국내 파프리카 재배 면적 707ha에 필요한 종자 구입비는 약 138억원 정도로 재배면적 확대와 더불어 종자 수입 비용이 더욱 증가할 것으로 판단되어 수입대체를 위한 신품종 개발이 절실한 실정이다.
- 현재 파프리카 품종은 유럽 및 미국의 다국적 기업으로부터 전량 수입되고 있으며 ha당 종자 구입비는 약 18,500천원으로 추정, 국내 파프리카 재배면적 2015년 707ha에 필요한 종자 구입비는 약 131억으로 추정한다. 품종별 재배비율은 적색품종이 62%, 황색 31%, 주황색 7%, 적색품종에는 Veyron(Enza Aaden), 황색품종(Coletti(Enza Zaden), 주황색 Orange glory(세미니스)가 가장 높은 점유를 보이고 있다.
- 파프리카 종자의 자국화에 있어서 가장 중요한 요인 중에 하나는 품질 우수성이다. 특히 국내 생산 농작물 중 대표적인 수출 품목으로 자리매김하고 있고 네덜란드, 뉴질랜드, 중국, 태국, 베트남 등과 국제적인 경쟁력을 갖추어야 하는 상황을 고려할 때 국내뿐만 아니라 국제시장에서 소비자의 요구에 부합할 수 있는 고품질 품종의 개발 및 육성이 매우 중요하다.
- 자국의 파프리카 종자 개발에 있어서 영양성과 기능성뿐만 아니라 소비자의 기호성을 충족시킬 수 있는 고품질 파프리카를 생산하여야 하며 카로티노이드는 이를 검증할 수 있는 지표성분으로 이를 정확하게 분석할 수 있는 기술개발이 필요하다. 지금까지는 카로티노이드의 대표성분인 베타-카로틴을 지표성분으로 논하여 왔으나 파프리카는 색상별로 다양한 조성의 카로티노이드를 함유하고 있으므로 이를 정성적, 정량적으로 분석하여 색상별 지표성분을 명확히 하고 카로티노이드 프로파일링을 통해 전체적인 색상에 영향을 미치는 개별 성분의 정량적 평가 연구가 필요하다.
- 자국의 고품질 파프리카 품종의 개발을 위해서는 신품종 개발과정에서 분자유종 및 품질평가 기술의 접목이 이루어져야 하며 이는 파프리카 신품종의 개발 및 시험생산 과정에서 향후 상업적으로 유통되기 전 품질을 예측할 수 있는 기술로 활용될 수 있고 나아가 파프리카의 수확 후 품질관리에 요구되는 품질지표로서 활용할 수 있는 기반기술의 구축이 절실하다.
- 또한 파프리카 생산이 전국단위로 이루어지고 생산농가가 증가하고 있는 점을 고려하여 파프리카 고유의 품질 지표인 카로티노이드 분석기술 개발 및 이를 통한 표준분석법(SOP)을 확립함으로써 품질검증을 하고자 하는 유관기관이나 기업에서 활용할 수 있도록 기술 지원한다면 신품종 개발에 따른 품질 검증이 원활하게 이루어질 수 있을 것으로 사료된다.
- 따라서 본 과제에서는 도입품종이 유럽재배 환경에 최적화되어있어 계절별 기후 및 재배조건이 다른 국내 환경에서 작과력 저하, 각종 생리장애 발생 등 문제점이 빈번하게 발생되며, 재배 작형의 다변화, 수출용 품종육성을 위한 기반마련, 유럽시장진출을 위한 기반마련이 주요목표로서 소포자 배양 기술의 확립에 의하여 품종육성에 필요한 풍부한 재료를 제공할 수 있는 기술을 개발하고자 한다.
- 나아가 파프리카의 객관적이고 신뢰할 수 있는 품질 지표를 설정 및 분석 기술 확립을 위해 파프리카의 화학적, 관능적 특성에 대한 객관적 평가 지표 확립하고 파프리카 신품종 개발에 따른 품질분석 지원을 수행하며 카로티노이드의 표준분석법을 확립하여 유관기관에서 활

용할 수 있도록 가이드라인을 제시하는 것을 목표로 한다.

IV. 연구개발 내용 및 범위

- 파프리카 유래 카로티노이드 분석법 검증 및 확립
- 파프리카의 관능적 품질 평가
- 파프리카의 카로티노이드 분석과 관능평가를 위한 표준분석법(SOP) 확립 및 적용·보완
- 파프리카 잎 유래 루테인의 추출 분리 및 분석 조건 검증
- 파프리카 신품종의 카로티노이드 분석 지원
- 파프리카 유래 플라보노이드 동시 분석 조건 설정
- 파프리카 추출물의 항산화·항당뇨 활성
- 조기 DH line 확보를 위한 약배양 기술 개발
- 배발생 효율 향상을 위한 소포자 배양 기술 개발
- 유기 식물체의 순화율 향상을 위한 순화장치 개발
- 수집 유전자의 분석 및 유기 DH line의 기업체 및 기관 서비스

V. 연구개발결과

제 1 절 파프리카 유래 카로티노이드 분석법 검증 및 확립

- 파프리카에서 유래하는 카로티노이드의 표준분석법 확립 및 신품종 적용을 위해 종묘회사, 농업기술원, 학계 등 유관기관으로부터 년차별로 품종별, 색상별 시료를 수집하였으며 시료 전처리는 세척, 비가식 부위 제거, 절단(팔등분)한 다음 동결건조 후 분쇄하여 냉동보관(-70°C) 하였다.
- 유리 상태의 파프리카 색소 조성을 연구하기 위해 색소에서 지방산을 분리하는 검화 반응을 실시하였다. 파프리카 시료는 가압용매추출장치(ASE, accelerated solvent extraction, ASE 150, Dionex, Sunnyvale, CA, USA)를 이용하여 추출하였고, TurboVap LV (Biotage, Uppsala, Sweden)로 농축하여 3mL로 정용한 후 30% KOH/MeOH 1mL과 methanol 3mL을 혼합하여 빛을 차단한 채 2시간 30분 동안 검화하고 유기용매층만 분리 농축하였다.
- 적색 파프리카 아세톤 추출액의 비검화와 검화 비교 평가를 위하여 각각의 색소 조성 분석을 위한 UPLC 조건은 용매 (A) 15% water in methanol, (B) 50% acetone in methanol로 구배조건 0min 100% A - 1min 100% A - 20min 0% A - 21min 0% A - 24min 100% A - 25min 100% A로 하여 유속 0.3 mL/min, 파장 450nm, 칼럼온도 35°C, 주입량 1.0μL에서 수행하였으며, 그 결과 적색 파프리카 아세톤 추출물을 검화한 것이 지방산 유리가 효과적으로 이루어진 것을 확인하였다.
- 적색 파프리카 추출 용매 및 검화를 비교하기 위하여 동일한 ASE 방법으로 추출하였다. 그 결과, 아세톤 추출물이 아세톤과 헥산을 1:1로 혼합한 용매로 추출한 것보다 검화 시 추

출이 더 잘 되는 것을 확인하였다. 또한 UPLC 분석 시 HSS T3 컬럼이 BEH C18 컬럼보다 분리도는 더 좋으나 피크의 머무름 시간이 더 긴 것을 확인하였다.

- 적색 파프리카의 주요 카로티노이드인 캡산틴을 정성 및 정량분석을 위하여 분석시간이 짧은 BEH 컬럼을 이용하여 캡산틴 신속 분석법을 개발하였다. 추출방법은 최적 용매인 아세톤을 이용하였으며 30% KOH/MeOH를 이용하여 상기와 동일한 방법으로 검화 반응을 거친 후에 UPLC를 이용하여 정성 및 정량 분석을 수행하였다. 캡산틴 분석을 위한 UPLC 조건은 용매 (A)methanol (B)water = 85 : 15, 유속 0.5 mL/min, 파장 470 nm, 칼럼온도 35 °C, 주입량 1.0µL에서 수행하였다. 그 결과, 캡산틴의 피크 검출시간은 2.38분으로 신속 검출이 가능하였으며, 적색파프리카 검화 추출물에서 캡산틴의 피크 역시 좋은 분리도를 나타내는 것을 확인하였다.
- 캡산틴의 검출한계, 정량한계, 직선성의 결과, 회귀식은 $y=11718x-11417$, 상관계수(r^2)는 0.9991로 높은 직선성을 나타내었으며, 직선성을 나타내는 범위 내에서 캡산틴의 검출한계 1.2 µg/mL, 정량한계 3.7 µg/mL로 충분한 감도와 직선성을 가지고 있는 것을 확인하였다. 캡산틴 분석법의 일간 RSD는 2.86~9.01%, 일내 RSD는 5.15~8.07%이었으며, 이에 해당하는 회수율은 91.88~104.23%였다. 검증된 캡산틴의 신속 정량을 위한 분석법을 이용하여 적색파프리카 바이런 품종에서 캡산틴의 함량을 분석한 결과 건조중량 100g 당 26.08 ± 0.34 mg이었다.
- 적색파프리카의 주 카로티노이드인 캡산틴 추출을 위한 가압용매장치(ASE)의 최적 조건을 찾기 위해 반응표면분석법(Response surface materila, RSM)을 수행하였다. 반응표면분석법 중 최소 실험점으로 최적 조건을 선정할 수 있는 Box-Behnken법을 이용하였으며, 실험요인은 ASE 온도(X_1 , 60-100°C), ASE static time(X_2 , 3-5°C), 추출용매인 에탄올 대비 아세톤 농도(X_3 , 50-100%)로 하여 분석한 결과, RSM 예측값은 Minitab 14(Minitab Inc. PA USA)을 이용하여 독립변수 X와 종속변수 Y에 대한 방정식은 $Y=32.58+7.30X_1+2.00X_2+2.50X_3-2.36X_1^2+4.10X_2^2+3.71X_3^2-2.89X_1X_2-4.02X_1X_3-5.09X_2X_3$ 로 나타났으며, 캡산틴의 최적추출조건은 ASE 추출온도(X_1)는 100°C, ASE static time(X_2)은 5분, 추출용매는 아세톤과 에탄올 5:5 (v/v)으로 나타났다. 이때 예측되는 캡산틴의 추출량은 26.1236µg/g d.w.으로 확인되었다.
- UPLC를 이용한 카로티노이드 12종 동시분석법을 적용하여 (주) 농산무역, 전북농업기술원, 경남농업기술원에서 수집된 색상별 품종별 파프리카의 카로티노이드 함량을 분석한 결과, 적색 파프리카 시로코 품종의 주 카로티노이드는 캡산틴으로 20.52 ± 0.46 mg/100g d.w., 주황색 파프리카 오렌지프로 품종의 주 카로티노이드는 제아잔틴으로 165.79 ± 38.54 mg/100g d.w.가 함유되어 있었다. 노랑색 파프리카 볼란테 품종과 녹색 파프리카 레드마운틴 품종의 주 카로티노이드는 루테인으로 각각 9.46 ± 1.94 와 14.43 ± 4.34 mg/100g d.w.씩 함유되어 있었다. 총 카로티노이드 함량은 주황색 파프리카 오렌지프로 품종이 198.99 ± 0.99 mg/100g d.w.로 가장 높았다.
- 전북농업기술원에서 제공받은 시료의 카로티노이드 분석 결과, 적색 파프리카의 주요 색소 성분인 캡산틴은 레드마운틴 품종이 31.80 ± 5.25 mg/100g d.w.로 가장 그 함량이 높았으며,

총 카로티노이드 함량 역시 43.32 ± 7.95 mg/100g d.w.로 가장 높았다. 주황색 파프리카의 주요 색소 성분인 제아잔틴은 마쭈나 품종에서 151.39 ± 5.94 mg/100g d.w.로 가장 높았으며 총 카로티노이드 함량 역시 190.43 ± 6.93 mg/100g d.w.로 가장 높았다. 노란색 파프리카는 다른 색상보다 카로티노이드 함량이 전체적으로 낮은 것을 확인할 수 있었으며, 주요 색소 성분인 루테인이 스펠과 콜레티에서 각각 13.16 ± 1.32 와 13.83 ± 1.16 mg/100g d.w.로 가장 높은 것을 확인할 수 있었다. 앤서잔틴의 경우 적색 파프리카에서는 검출되지 않고 주황과 노랑 파프리카에서 검출되는 것을 확인할 수 있었다.

- 경남농업기술원에서 제공받은 시료의 카로티노이드 분석 결과는 표 21과 같다. 적색 미니파프리카의 주요 색소 성분인 캡산틴은 20×23 시료에서 28.62 ± 1.15 mg/100g d.w.로 가장 높았다. 적색 피노키오 파프리카인 Acrobat 품종에서 수경재배 시 캡산틴 함량이 46.72 ± 9.44 mg/100g d.w., 토경재배 시 캡산틴 함량이 29.57 ± 4.58 mg/100g d.w.로 수경재배 시 캡산틴 함량이 토경재배보다 높았다. 적색 미니 파프리카 중 98×21 시료에서 다른 적색 미니 파프리카와는 달리 캡소루빈은 검출되지 않았으며, 캡산틴 함량이 3.98 ± 0.90 mg/100g d.w.로 가장 낮았으며, 제아잔틴이 121.41 ± 30.10 mg/100g d.w.로 다량 함유되어 있는 것을 확인할 수 있었다.
- 주황색 미니 파프리카의 주요 색소 성분인 제아잔틴은 98×101 시료에서 115.53 ± 1.36 mg/100g d.w.로 그 함량이 가장 높았으며, 총 카로티노이드 함량 역시 높았다. 주황색 피노키오 파프리카인 Oranos 품종에서 수경재배 시 제아잔틴 함량이 49.05 ± 25.33 mg/100g d.w., 토경재배 시 제아잔틴 함량이 112.64 ± 3.17 mg/100g d.w.로 주황색 피노키오 파프리카에서 토경재배가 수경재배보다 제아잔틴 함량이 높은 것을 확인할 수 있었다. 주황색 미니와 피노키오 파프리카에서 적색과와 달리 앤서잔틴이 검출되는 것을 확인할 수 있었다.
- 노란색 미니 파프리카의 주요 색소 성분은 루테인이며, 98×25 시료에서 그 함량이 24.98 ± 3.22 mg/100g d.w.로 가장 높았다. 노란색 피노키오 파프리카인 Xanthi 품종에서 수경재배 시 루테인 함량은 29.10 ± 2.27 mg/100g d.w.이며, 토경재배 시 루테인 함량은 26.76 ± 0.64 mg/100g d.w.로 수경재배 시 루테인 함량이 토경재배 보다 그 함량이 약간 높은 것을 확인할 수 있었다.

제 2 절 파프리카의 관능적 품질 평가

- 파프리카의 관능평가를 위한 용어 개발을 위해 선행연구에서 평가하였던 항목인 외관(크기, 색상, 광택성), 조직감(경도, 과즙성), 맛(단맛, 매운맛, 신맛)에 자료조사 및 연구진의 집중 토의를 통해 파프리카만의 고유한 품질인자로 쓴맛(bitter taste), 오이향(cucumber aroma), 풋내(grassy aroma), 풋고추향(green pepper aroma)를 추가적으로 선정하여 관능평가도구를 개발하였다.
- 수집된 색상별 품종별 파프리카의 색도와 경도는 파프리카를 일정한 크기(2.0 × 2.0 cm)로 자른 뒤 색차계(CM-3500D, Minolta, Japan)와 Texture analyzer (TA/XT2, Stable Micro

System, UK)를 이용하여 측정하였다. 색도 분석 시 Color space는 hunter 색차계인 L(명도), a(적색도), b(황색도)로 측정하였다.

- 전북농업기술원에서 제공받은 파프리카의 색도 및 경도 측정 결과, 적색과에서는 명도를 나타내는 L값이 유의차가 없었으며, 나가노의 a값이 26.11 ± 1.77 로 가장 낮아 적색도가 가장 낮은 것으로 확인되었으며, 주황색과에서는 적색도를 나타내는 a값이 유의차가 없었으며, 오렌지글로리의 L값이 40.17 ± 2.14 , b값이 32.80 ± 2.18 로 가장 낮았다. 노란색과에서는 황색도를 나타내는 b값이 유의차가 없었으며, 아트란테의 L값이 52.61 ± 1.59 으로 가장 높았으며, 콜레티의 a값이 4.83 ± 0.40 으로 가장 낮았다. 경도는 적색과 중 레드마운틴과 메그니피코가 각각 1362.13 ± 29.31 과 1323.96 ± 61.62 로 가장 높았으며, 주황색과 중 오렌지글로리가 1457.64 ± 99.06 으로 가장 높았다. 노란색과 중에서는 요리트가 1210.88 ± 61.66 으로 가장 높았다.
- 경남농업기술원에서 제공받은 파프리카의 색도 및 경도 측정 결과, 적색과에서 미니파프리카인 98x21와 RD-Glory의 L값이 39.69 ± 2.12 와 38.33 ± 1.50 으로 유의하게 높았다. 특히 RD-Glory의 경우 L, a, b값과 경도가 모두 유의하게 높은 것을 확인할 수 있었다. 주황색과에서 48x49와 OE-Glory 시료에서 L, a, b값과 경도가 유의하게 높은 것을 확인할 수 있었다. 노란색과에서는 피노키오 파프리카인 Xanthi 품종 중 토경 재배에서 L값과 b값이 각각 56.78 ± 1.01 과 59.66 ± 4.62 로 유의하게 높았다.
- 품종별 적색, 주황색, 노란색 파프리카의 관능검사는 방송통신대학교 학과 조교 및 서울대학교 식품영양학과 대학원생 40명을 대상으로 검사방법과 평가 특성에 대하여 교육시킨 후, 다음과 같은 특성에 대하여 관능평가를 실시하였다. 파프리카는 전북농업기술원 시료에서 적색과 중 나가노와 프릴루리움, 주황색과 중 마쭈나와 오렌지스타, 노란색과 중 스벤과 콜레티를 선정하였으며 일정한 크기(0.5×5.0 cm)로 준비하여 흰색 폴리에틸렌 1회용 접시에 담아 일정하게 난수표를 붙여 관능평가원에게 제공하였고, 한 개의 시료를 먹고 난 후에는 물로 입안을 헹군 다음 시료를 평가하도록 하였다. 평가한 관능평가 항목은 1차년도에 파프리카 관능평가를 위해 개발된 평가지를 적용하였으며, 그 내용은 외관(크기, 색상, 광택성), 조직감(경도, 과즙성), 맛(단맛, 매운맛, 쓴맛), 향(풋고추향, 오이향), 전체적 기호도이며 평가지 내용은 그림 27과 같다. 모든 특성은 5단계로 평가하여 5점 척도법으로 검사법을 실시하였다. 평가방법은 관능검사 항목에 대해 (너무 나쁘다 또는 너무 약하다: 1점, 나쁘다 또는 약하다: 2점, 보통: 3점, 좋다 또는 강하다: 4점, 너무 좋다 또는 너무 강하다: 5점) 평가하여 숫자가 클수록 특성이 높은 것으로 하였다.
- 색상별 파프리카의 관능평가 결과, 크기는 노랑 파프리카 스벤과 콜레티에서 통계적으로 유의하게 차이가 났으며, 단맛의 경우 적색 프릴루리움과 주황색 오렌지스타가 각각 2.90 ± 0.85 점, 3.66 ± 0.67 점으로 품종간 유의차가 나타났다. 노랑 파프리카인 스벤과 콜레티에서 쓴맛이 통계적 유의성을 보였다. 적색과인 나가노가 프릴루리움보다 풋고추향이 더 약하다고 응답하였다($P < 0.05$).
- 관능검사를 수행한 시료들에 대해 기기를 이용한 물리적 분석법으로 색도와 경도에서 차이를 나타내는지를 확인하기 위하여 분석 후 t-test를 수행하였으며, 그 결과, 관능평가 수행

시 색상과 경도에서 색상에 따른 품종 간 유의차가 나타나지 않았으며, 기기를 이용한 물리적 평가 역시 동일한 것을 확인할 수 있었다. 그러나 관능평가 수행 시 1차년도에서 관능평가 항목으로 개발된 풋고추향과 오이향 등과 더불어 외관, 질감, 맛, 향 뿐 아니라 전체적 기호도까지 평가할 수 있으므로 개발된 파프리카 관능평가 항목은 파프리카 농가에서 소비자의 기호도 평가를 위해 활용 가능할 것이라 사료된다.

제 3 절 파프리카의 카로티노이드 분석법 관능평가를 위한 표준분석법(SOP)

- 파프리카의 카로티노이드 분석을 위한 SOP는 실험을 위한 생 파프리카의 전처리 방법, 카로티노이드 추출법, 적색 파프리카의 주요 색소인 캡산틴의 신속 분석법 및 파프리카 유래 여러 카로티노이드 색소의 동시분석법을 기술하였다.
- 파프리카의 유래 카로티노이드 분석을 위해 생 파프리카의 전처리 방법으로 열풍건조법과 동결건조법의 SOP를 작성하였으며, 생 파프리카의 수세, 절단, 건조 전 보관 방법 기술 및 각 건조방법에 따라 기기의 예를 들어 설명하였으며, 파프리카 분석을 위한 건조 후 분말 입자 제조 SOP에서 분말입자 제조 시 주의점 및 분말 입자 크기까지 각각에 해당하는 예를 기술하였다. 분석을 위해 전처리된 파프리카 시료에서 카로티노이드 색소를 추출하는 방법을 일반유기용매추출법과 가속용매추출장치(ASE)를 이용하여 추출하는 방법으로 구분하여 SOP를 작성하였으며, 추출 후 검화하는 과정을 자세히 기록하여 누구나 쉽게 분석법에 접근할 수 있도록 SOP를 작성하였다.
- 적색 파프리카의 주 카로티노이드 성분인 캡산틴의 신속 추출법과 파프리카 유래 카로티노이드의 동시분석에 관한 SOP를 HPLC와 UPLC 장비를 이용한 방법으로 작성하였다. 분석 관련 SOP에는 사용한 표준품의 구조식과 분자식 및 분자량 등을 자세히 담아 각 카로티노이드를 구분 할 수 있도록 기술하였다. 또한 분석 장비, 용매 등과 같은 분석 조건뿐만 아니라, 해당 분석 시 결과로 얻을 수 있는 크로마토그램 예 및 검량선, 계산방법을 포함하여 작성하였다.
- 파프리카의 관능평가를 위한 패널을 선정하는 기준과 패널 훈련 방법에 대한 SOP, 파프리카 관능평가를 위한 관능평가 sheet 개발 SOP, 관능평가용 파프리카의 시료 준비 방법 및 패널에게 제시방법에 대한 SOP, 관능평가결과 통계처리법에 대해 기술하였다.

제 4 절 파프리카잎 유래 루테인의 추출 분리 및 분석 조건 검증

- 파프리카 잎의 주요 카로티노이드인 루테인을 정성 및 정량분석을 위하여 분석시간이 짧은 BEH 컬럼을 이용하여 루테인 신속 분석 조건을 용매 (A)methanol (B)water = 80 : 20 (v : v), 유속 0.5 mL/min, 파장 470nm, 칼럼온도 40°C, 주입량 1.0 μ L의 조건에서 수행하였으며, 그 결과, 루테인 피크 검출시간은 6.37분으로 짧은 시간 내에 분석이 가능한 조건을 확립하였다.

- 루테인은 0.5~200 µg/mL 범위 내에서 14가지 농도로 표준용액을 만들어 분석법을 검증한 결과, 검량선의 직선성을 위한 회귀식은 $y=5909.8x-5959.9$ 이며, 상관계수(r^2)는 0.9989로 높은 직선성을 나타내었으며, 직선성을 나타내는 범위 내에서 루테인의 검출한계 1.2 µg/mL, 정량한계 3.7 µg/mL의 수준을 나타내어 루테인을 분석할 수 있는 충분한 감도와 직선성을 가지고 있는 것을 확인하였다. 루테인 분석법의 일간, 일내 정확도, 정밀도 회수율 결과는 표 29와 같다. 루테인의 일간 RSD는 0.31~2.78%, 일내 RSD는 1.18~2.528.07%이었으며, 이에 해당하는 회수율은 98.97~103.06%로 나타나 개발된 분석방법이 루테인의 정량분석이 가능한 재현성을 가지고 있다는 것을 확인하였다.
- 파프리카 잎으로부터 루테인 추출을 위한 가압용매장치(ASE)의 최적 조건을 찾기 위해 반응표면분석법(Response surface materila, RSM)을 수행하였다. 중심합성계획법(Central Composite Design, CCD) 법을 이용하였으며, ASE 온도(X_1 , 60~180°C, ASE static time (X_2 , 1~5 min), ASE 추출용매 (X_3 , 60~100%(물 대비 에탄올 농도)이며, 이 세 가지 요인 변수를 -1.682, -1, 0, 1, 1.682의 5단계로 부호화하였다.
- 중심합성계획법의 각 설계 변수에 따른 실험값인 루테인 함량은 20개의 추출조건을 이용하여 무작위로 순서를 정하여 3반복 실험하였으며, ASE 추출 조건인 각 변수에 영향을 받는 종속변수(Y)는 루테인 함량을 나타내며, 건조 중량을 기준으로 그 함량을 나타내었다. 실험 결과 설계 변수 중 12번인 추출 온도 120°C, Static time 5min, 추출용매 80% 에탄올에서 루테인 함량이 286.79 ± 26.22 µg/g으로 가장 높았다.
- RSM 분석을 통해 찾아낸 파프리카 잎으로부터 루테인의 최적추출조건을 Minitab 예측 그래프로 나타내면 그림 35와 같다. 각 설계 변수에 따른 최적 추출 조건은 ASE 추출 온도 (X_1) 93.26°C, ASE static time(X_2) 5분, ASE 추출 용매(X_3) 79.63% 에탄올로 확인되었으며, 이때 예측되는 루테인 추출 함량은 232.6021 µg/g d.w.로 확인되었다.

제 5 절 파프리카 신제품의 카로티노이드 분석 지원

- 카로티노이드 표준분석법을 검증한 후 협력기관에서 육성중인 신제품에의 적용을 위해 농업기술원과 종묘회사로부터 시료를 제공받아 분석지원을 실시하였다. 농우바이오에서는 적색 3종, 노랑 3종, 삼성종묘로부터 적색 8종, 주황 4종, 노랑 10종으로 총 28종을 제공받아 표준분석법 검증 및 신제품에의 적용 지원 연구를 수행하였다. 4차년도에는 경남농업기술원과 농협에서 색상별(적색 30종, 주황 9종, 노랑 17종, 연한노랑 6종, 진한노랑 6종, 보라 1종), 농산무역의 보라(마브리스), 갈색(브라우니), 흰색(비앙카) 각 1종씩 총 72종의 파프리카를 제공 또는 구입하여 확립된 카로티노이드 분리 분석 조건에 적용하여 분석지원을 수행하였고 보라색, 갈색, 흰색의 경우 확립된 카로티노이드 분리 분석 조건에 적용하여 카로티노이드프로파일의 비교 연구에 사용하였다.
- 농우바이오와 삼성종묘에서 제공받은 색상별, 품종별 블로키 타입 파프리카에서 카로티노이드 함량을 정량적으로 분석하였다. 분리된 카로티노이드 표준품 12종의 머무름 시간은 네오

잔틴 3.941분, 캡소루빈 4.843분, 비올라잔틴 6.168분, 캡산틴 8.518분, 앤서잔틴 9.265분, 제아잔틴 14.395분, 루테인 15.675분, 알파-크립토잔틴 20.563분, 베타-크립토잔틴 20.690분, 리코펜 22.346분, 알파-카로틴 24.610분, 베타-카로틴 25.026분으로 나타났다.

- 농우바이오에서 제공받은 적색, 노란색 파프리카의 카로티노이드 분석을 수행한 결과 적색과에서는 캡소루빈, 캡산틴, 베타-크립토잔틴, 베타-카로틴이 공통으로 검출되었으며, 노란색과에는 네오잔틴, 제아잔틴, 루테인, 알파-크립토잔틴, 베타-크립토잔틴, 알파-카로틴, 베타-카로틴이 공통으로 검출되었다.
- 농우바이오에서 제공받은 시료의 카로티노이드 분석 결과, 적색 파프리카 품종의 주 카로티노이드는 캡산틴으로 $7.05 \pm 0.24 \sim 8.76 \pm 1.20$ mg/100g d.w.가 함유되어 있었으며, 노란색 파프리카 품종의 주 카로티노이드는 루테인으로 $2.81 \pm 0.39 \sim 3.66 \pm 0.03$ mg/100g d.w.가 함유되어 있었다. 농우바이오에서 제공받은 적색 파프리카 중 '9589' 시료의 총 카로티노이드 함량이 9.80 ± 1.33 mg/100g d.w.으로 가장 높았으며, 노란색 파프리카 중 '9707' 시료의 총 카로티노이드 함량이 5.27 ± 0.07 mg/100g d.w.으로 가장 높았다.
- 삼성종묘에서 제공받은 적색, 주황색 노란색 파프리카의 카로티노이드 분석을 수행한 결과 적색과에서는 캡소루빈, 캡산틴, 베타-크립토잔틴, 베타-카로틴이 공통으로 검출되었으며, 주황색과에서는 네오잔틴, 비올라잔틴, 앤서잔틴, 제아잔틴, 루테인, 알파-크립토잔틴, 베타-크립토잔틴, 알파-카로틴, 베타-카로틴이 공통으로 검출되었다. 노란색과에는 네오잔틴, 비올라잔틴, 제아잔틴, 루테인, 알파-크립토잔틴, 베타-크립토잔틴, 알파-카로틴, 베타-카로틴이 공통으로 검출되었으며, 앤서잔틴의 검출은 노란색 파프리카의 품종에 따라 검출 및 함량에 차이가 나타났다.
- 삼성종묘에서 제공받은 시료의 카로티노이드 분석 결과, 적색 파프리카의 주 카로티노이드는 캡산틴이었으며, 'SW-909' 시료가 7.22 ± 1.54 mg/100g d.w.으로 적색 파프리카 중 캡산틴 함량이 낮았으며, 'SW-901' 시료가 13.05 ± 1.40 mg/100g d.w.으로 캡산틴 함량이 가장 높았다. 'SW-901' 시료는 카로티노이드 중 적색을 나타내는 카로티노이드인 캡소루빈 함량도 1.68 ± 0.18 mg/100g d.w.으로 시료 중 가장 함량이 높은 것을 확인할 수 있었다. 주황색 파프리카의 주 카로티노이드는 제아잔틴이었으며, 'SW-926' 시료에서 제아잔틴의 함량이 65.53 ± 4.42 mg/100g d.w.으로 다른 시료에 비해 그 함량이 가장 높았으며, 총 카로티노이드 함량도 91.86 ± 3.75 mg/100g d.w.로 가장 높았다. 노란색 파프리카의 주 카로티노이드는 루테인이었으며 'SW-918' 시료에서 루테인의 함량이 10.06 ± 1.42 mg/100g d.w.으로 가장 높았다. 노란색 파프리카의 주 카로티노이드는 루테인이나 노란색 파프리카 전체 시료의 함량은 $5.38 \pm 0.41 \sim 10.06 \pm 1.42$ mg/100g d.w.으로 주황색 파프리카의 루테인 함량인 $12.50 \pm 1.32 \sim 21.56 \pm 0.44$ mg/100g d.w.보다 낮은 수준으로 확인되었다.
- 경남농업기술원에서 제공받은 적색파프리카의 분석결과, acrobat 품종이 69.09 ± 8.25 mg/100g d.w. 으로 가장 함량이 높았으며 이 중에서 캡산틴의 함량이 44.01 ± 3.65 mg/100g d.w.으로 60%이상 검출되었다. NHR1, NHR2, NHR3, NHR31은 붉은색으로 캡산틴 함량이 가장 높게 검출되는 경향은 유사하나 제아잔틴과 루테인이 상대적으로 많이 검출되어 기존의 적색파프리카와 다른 경향을 보였다. SR2, SR4, SR6, JBR1, JBR2, JBR3 역시 제아잔틴

이 검출되는 특성을 보였다.

- 주황색과 노란색은 전체적으로 파프리카 색상의 프로파일이 다양하게 분포하는 특성을 보였으며 노란색과 주황색은 카로티노이드의 농도에는 차이가 있으나 카로티노이드 프로파일이 거의 유사하였고 주황색파프리카에서 제아잔틴과 루테인 함량이 다소 높게 나타나는 경향을 보였다.
- 보라색, 갈색 아이보리색 파프리카에 함유된 카로티노이드 조성을 살펴보면, 표면이 동일한 보라색이지만 경남농업기술원에서 제공받은 보라색파프리카는 표피 아랫부분이 붉은색이었으며 전체 카로티노이드 함량이 25.15 ± 8.80 mg/100g d.w.이었고 이 중에서 캡산틴 함량이 13.70 ± 5.19 mg/100g d.w.으로 50%이상을 차지하였으며 붉은색 파프리카에서 발현되는 카로티노이드류가 검출된 반면, 농산무역에서 판매되고 있는 보라색 파프리카는 카로티노이드 함량이 8.15 ± 0.68 mg/100g d.w.이었고 루테인이 5.59 ± 0.66 mg/100g으로 약 70%를 차지하였다.
- 갈색 파프리카는 경남농업기술원의 보라색파프리카와 카로티노이드 프로파일은 유사하였고 카로티노이드 함량은 39.85 ± 4.38 mg/100g d.w.이었으며 캡산틴 함량이 21.75 ± 2.74 mg/100g d.w.로 50%이상을 차지하였다. 아이보리색 파프리카는 카로티노이드류가 전혀 검출되지 않았다.
- 농협에서 의뢰한 시료는 노란색의 강도가 다른 파프리카 2종의 카로티노이드 프로파일을 비교하고자 하였다. 분석결과 연노랑 2471시료는 연한색으로 보이지만 루테인의 함량이 높아 총 카로티노이드 함량은 20.33 ± 3.93 mg/100g d.w.로 연노랑 2497 시료의 5.10 ± 0.77 mg/100g d.w. 보다 높게 나타났다. 반면, 진노랑 파프리카에서는 2469 시료의 경우 총 카로티노이드 함량이 42.09 ± 15.97 mg/100 d.w.으로 높았는데, 제아잔틴 24.49 ± 14.93 mg/100g d.w.과 11.13 ± 1.44 mg/100g의 함량이 높고 붉은색 파프리카에서 검출되는 캡산틴, 캡소루빈이 소량 검출되어 색의 강도에 영향을 미친 것으로 보인다.

제 6 절 파프리카 유래 플라보노이드 동시 분석

- 파프리카 유래 플라보노이드 동시 분석 조건을 확립하기 위해 플라보노이드 10종 분석을 위한 UPLC 조건은 용매 (A)D.W.(0.1% formic acid) (B)acetonitrile (0.1% formic acid)로 농도구배조건은 0min 98% A - 6min 75% A - 10min 75% A - 12min 98% A - 13min 98% A, 유속 0.4mL/min, 파장 270nm에서 분석한 결과, 표준품 10종의 머무름 시간은 갈릭산 0.854분, 프로토키테퀴산 1.704분, 클로로젠산 3.015분, 카테킨 3.097분, 카페익산 0.222분, 루테올린 7.065분, 퀴세틴 7.096분, 나린제닌 8.183분, 아피제닌 8.299분, 캄페롤 8.641분으로 나타났으며, 카테킨과 카페익산, 루테올린과 퀴세틴, 나린제닌과 아피제닌은 분리되지 않았다.
- (주) 농산무역에서 제공받은 시료 중 적색과 바이런 품종, 주황색과 오렌지프로 품종, 노란색과 볼란테 품종, 녹색과 바이런 품종, 파프리카 잎에서 플라보노이드 추출을 수행하였다. 건

조시료 1g에 80% 메탄올 10mL을 넣고 1시간 동안 sonication을 이용해 추출 후 N₂ gas로 용매를 제거하여 2mL로 정용하였다. 여기에 동량의 MeOH를 넣은 후 4,000rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액 4mL과 동량의 2.8M HCl/MeOH을 혼합하여 90°C에서 10분간 가수분해를 수행하였다. 가수 분해 후 MeOH를 제거한 후 남은 추출액 2mL과 ethylacetate 2mL을 혼합 및 원심분리 후 상층액을 취해 N₂ gas로 용매를 제거하여 40% MeOH 로 용해하여 MILLEX-HV 0.22μm PTEF syringe filter (Millipore Corp. Bedford, MA, USA)로 여과한 후 분석에 사용하였다.

- 폴리페놀 분석조건은 HPLC에 의해 범용적으로 이루어지고 있으므로 HPLC를 활용한 분석조건을 설정하였다. 용매 (A)D.W.(0.1% formic acid) (B)acetonitrile (0.1% formic acid)의 농도구배조건 0 min 90% A - 10 min 80% A - 30 min 72% A - 35 min 69% A - 40min 90% A으로 하여 분석한 결과, Gallic acid, Protocatechuic acid, Chlorogenic acid, Catechin, Puerarin, 4-Hydroxy benzoic acid, Caffeic acid, *p*-coumaric acid, Ferulic acid, Naringin, Myricetin, Luteolin, Quercetin, Naringenin, Equol, Kampferol 등 총 16종의 폴리페놀을 동시분석할 수 있었다.

제 7 절 파프리카 추출물의 항산화·항당뇨 활성

- 색상별 파프리카의 항산화활성을 측정하기 위해 ABTS 라디칼 소거능과 DPPH 라디칼 소거능을 측정하였다. (주)농산무역에서 구입한 적색과, 보라색2, 갈색, 아이보리색, 경남농업기술원에서 제공받은 보라색1 파프리카를 동결건조한 후 80% 메탄올로 추출하여 고형분 1.0 mg/mL로 동일한 농도로 시료를 준비하여 측정하였으며 대조군으로 당조고추와 비타민 C를 이용하였다.
- 항산화능 측정을 위한 전처리는 다음과 같다. 색상별로 구분한 파프리카 5g를 80% 에탄올 50mL을 사용하여 추출 및 여과하였으며 진공농축기로 감압 농축하여 에탄올 층을 모두 제거한 후 시료로 80% 에탄올로 희석하여 사용하였다. ABTS radical 전자공여 소거능은 Arnao 등의 방법을 이용하여 측정하였다.
- 파프리카 추출물의 색상별 ABTS 라디칼 소거능을 분석한 결과, 농도가 높을수록 활성이 증가하였으며, 1.0 mg/mL을 기준으로 붉은색>아이보리색>갈색>보라색1>보라색2의 순으로 활성이 높았으며, 붉은색 파프리카는 당조고추보다도 활성이 높은 것으로 나타났다.
- 파프리카 추출물의 색상별 DPPH 라디칼 소거능을 분석한 결과, 농도가 높을수록 활성이 증가하였으며, 1.0 mg/mL을 기준으로 붉은색>갈색>아이보리색>보라색1>보라색2의 순으로 활성이 높았으며, 붉은색과 갈색 파프리카는 당조고추보다도 활성이 높은 것으로 나타났다.
- 색상별 파프리카의 AGI 효능을 평가하기 위해 (주)농산무역에서 제공받은 적색과 바이런 품종, 주황색과 오렌지프로 품종, 노란색과 볼란테 품종, 녹색과 바이런 품종을 이용하여 건조 시료에 80% 메탄올로 추출하여 고형분 1.0 mg/mL로 동일한 농도로 시료를 준비하여 평가하였다.

- 적색, 주황색, 노란색 파프리카 추출물의 AGI 효과는 적색 파프리카 바이런 품종이 $65.86 \pm 0.90\%$ 로 가장 높은 억제능을 보였으며($p < 0.05$), 주황색 파프리카인 오렌지프로 품종과 노란색 파프리카인 볼란테 품종이 각각 $49.71 \pm 1.16\%$ 와 $47.02 \pm 6.26\%$ 로 비슷한 수준의 억제능을 보였다. 색상별 파프리카 중 AGI 효과가 가장 낮은 것은 녹색 파프리카 바이런 품종으로 $21.71 \pm 2.16\%$ 를 나타냈다($p < 0.05$).

제 8 절 배발생 효율 향상을 위한 소포자 배양 기술 개발

- 소포자 나출방법은 유발 유봉을 이용한 마쇄 처리구에서는 소포자 획득 수율이 매우 낮았고, 비정상 소포자의 발생율도 높았다. Blender와 vortexing을 혼합한 처리구에서 소포자 획득수율이 높았으며, 정상 소포자 획득율도 높았다. Sieve pore size에 따른 소포자 획득 수율은 $75\mu\text{m} + 38\mu\text{m}$ 조합의 두 개 sieve를 겹친 처리구보다, $45\mu\text{m}$ Sieve 하나 처리구에서 소포자 획득율이 높았다
- 파프리카 배양에서 오염을 낮추기 위해 petal과 anther만을 소독하는 방법과 화퇴 전체 (petal+anther+ ovule+calyx)를 소독하는 방법으로 구분하여 오염을 비교하였다. 일반적인 소독방법인 약+꽃잎+꽃받침+자방이 포함된 전체 화퇴를 소독할 경우 83%가 오염되었으나, Ovule을 제거하고 약과 꽃잎만 소독한 경우 오염되지 않았다. 이는 파프리카 화퇴 구조가 약간의 압력에도 자방, 주두가 외부로 노출되어 오염되어있기 때문으로 전체 화퇴를 blending하여 소포자를 획득하는 것보다는 자방 및 꽃받침을 제거하고 약만 소독하여 소포자를 획득하는 것이 오염율을 낮출 수 있는 효과적인 방법으로 사료된다. 오염 방지를 위한 Antibiotics 처리는 Cefotaxim 100ppm 처리는 무처리와 비교하여 오염방지 효과를 보여주지 못하였으나, 200ppm 처리에서는 오염을 경감효과가 있었고, Cinnamon 250ppm과 500ppm 처리에서 탁월한 오염 방지효과를 관찰할 수 있었다.
- 배양효율을 증진시키기 위하여 화퇴 채취 후 4°C 전처리와 소포자 나출 후 32°C 고온조건으로 처리를 실시하였다. 화퇴 채취 직후 4°C 전처리는 1일 3일 모두 특별한 cell division을 관찰할 수 없었으나, 32°C 처리는 1일보다는 3일처리에서 cell division을 관찰할 수 있었고, 부분적으로 Globular shape를 형성하는 것을 관찰 할 수 있었다. 전처리 배지는 당을 첨가하지 않은 NLN배지에(KI 0.83mg/L)첨가한 NLNS배지에 Mannitol 0.37M 과 0.037M 로 구분하여 처리하였다. Mannitol 0.37M 처리구에서는 cell division을 관찰할 수 없었고, 0.037M 처리구에서 cell division이 관찰되었다.
- 모본의 유전자형 및 재배조건이 소포자 cell division에 미치는 영향에서는 유리온실에서 재배되는 모본은 광량과 영양분을 충분히 받고 성장하였으며, 최저온도 19°C , 최고 30°C 를 유지하면서 재배되었다. 비닐하우스의 재배조건은 겨울철 광량이 부족하고 습도가 높아 12월 1월동안 낙뢰율이 높아 보광작업을 직행하였으나 2월초까지 화퇴 형성이 왕성하지 못하였다. 유리온실에서 재배한 모본에서 채취한 재료는 소포자 획득이 높았고, cell division을 관찰할 수 있었으나, 겨울철 비닐하우스에서 재배한 모본에서 채취한 재료는 화퇴 형성

이 어려웠고, 소포자 획득율도 낮았으며, cell division을 관찰할 수 없었다.

- 전처리 완료 후 소포자 배양 배지를 NLNS와 *Capcium annuum* 약배양 배지로 이용되는 Duma De Vault' 'C' 배지를 이용하여 소포자의 배발생율을 관찰하였다. 소포자 배양에서는 약배양에 주로 사용되는 C 배지보다는 고추, 십자화과 소포자 배양에 많이 이용되는 NLNS 배지에서 globular shape와 cell cluster가 다수 형성되었다. 기본배지 NLNS를 이용하여 식물생장호르몬의 종류 및 조합이 배발생에 미치는 영향을 조사하였다. 식물생장조절제를 고추 약배양에서 배발생 효율이 높았던 조합인 0.1ppm kinetin과 2,4-D조합과 0.1ppm 2,4-D+NAA 조합을 이용하였다. 배발생 효율은 호르몬 처리구보다 호르몬을 사용하지 않았던 처리에서 배양효율이 높았다.
- 소포자 치상방법 및 치상밀도는 본 실험에서는 정체배양과 2중배양중에서는 cell cluster 형성 및 구형배로 진행을 관찰할 수 없었고, 60rpm으로 지속적 교반 배양을 진행한 처리구에서 cell cluster 형성 및 구형배로 진행이 관찰되었다. 고밀도 처리구(1×10^5 /mL)에서 cell cluster 발생이 빠르게 진행되었다가 구형으로 진행되기 전에 사멸하는 현상이 발생되었고, 저밀도 처리구(3×10^4 /mL)는 cell cluster 형성을 및 구형배 형성율도 낮았으나 세포 사멸율은 매우 낮은 편이었다. 5×10^4 /mL 처리구에서 25°C 1일 배양 후 1.5mL 배양배지를 첨가해준 처리구에서 배발생을 관찰하였다.

제 9 절 조기 DH line 확보를 위한 약배양 기술 확립

- 품종별 계통별 배발생율은 전체적으로 배양효율이 낮은 편이었으며 3차년 유전자원 수집 계통에서 1.73%로 비교적 높게 나타났다. 4차년도 재료 중 CA7은 수집 유전자원으로부터 자가교배를 통하여 선발된 자색계통(F_2)으로부터 유래된 것으로 4.90%의 매우 높은 배발생율을 볼 수 있었다.
- 식물생장조절물질이 배발생에 미치는 영향으로 Dumas De Vault' C 배지에 식물생장 조절물질을 달리하여 배발생에 미치는 영향을 조사하였다. 처리구별 배발생율은 식물생장조절제의 농도가 0.1ppm 수준의 배지(C2, C4, C5)에서 양호한 배발생율을 보였다. 반면 2,4-D와 kinetin을 고농도(1.0ppm)처리구와 2,4-D+NAA 저농도(0.01ppm) 처리(C3)에서는 배발생을 관찰할 수 없었다.
- 온도처리가 배발생에 미치는 영향으로 소포자 배발생 효율을 증진시키기 위하여 약 접종 후 30~35°C 고온처리를 실시하였다. 35°C처리는 접종 후 2일, 5일, 8일, 10일처리 하였다. 배발생율은 2일 0.64%, 8일 0.73%로 5일처리보다는 2일 혹은 8일 처리가 효과적이었다. 전처리 온도를 30°C와 32°C로 달리하여 7일간 배양했을 때 30°C보다 32°C에서 약 3배가량 높은 배가 형성된 것을 관찰 할 수 있었다.

제 10 절 조기 DH line 확보를 위한 Shed culture

- 고체+액체 이중배지를 이용한 shed culture에서 TSWV 저항성 품종은 발타사(B2TS)로부터 54개의 shed anther로부터 5개의 약에서 배발생이 관찰되었다. 이는 9.3%의 높은 배발생율로 shed culture 방법을 발전시키면 유효한 DH line 획득의 유용한 수단으로 사료된다.

제 11 절 유기 식물체 순화율 향상을 위한 순화장치 개발

- 조직배양 및 소포자유래 식물체의 대량순화를 위한 마이크로포닉 순화 시스템(Microponic Acclimatization System)을 개발하여 특허 출원하였다(출원번호 : 10-2016- 0168338 조직배양식물체의 대량순화 시설물).

제 12 절 유기 DH line의 서비스 및 분양

- 1년 및 2년차 자원분양을 31개체를 분양하였다. 3년차 67개 약으로부터 유래된 229개 DH line 및 식물체를 분양하였고, 4년차는 약배양, shed cultur를 통하여 유기된 312약으로부터 유래된 677개 식물체를 분양하였다.

제 13 절 유전자원의 수집 및 분석

- 2013년, 2014년 2015년 3년에 걸쳐 뉴질랜드, 호주, 미국, 멕시코에서 가지과 특히 파프리카류의 유전자원을 총 27점 수집하였다. 수집된 유전자원은 특성조사 및 자가교배 등을 통하여 F₂ 채종하였으며, 자색 등 유용유전자를 포함하고 있는 유전자원은 DH line 유기를 위한 배양재료로 이용하였다.

VI. 연구성과 및 성과활용 계획

1. 연구성과

가. 논문발표 및 게재

번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCI여부 (SCI/비SCI)
1	UPLC를 이용한 색상별 파프리카 유래 카로티노이드의 정량적 평가	한국식품과학회지	김선아	47(1)	국내	한국식품과학회	비SCI
2	파프리카 품종별 색상별 특성을 위한 기기적, 관능적 품질 지표 평가	동아시아식생활학회지	김선아	26(1)	국내	동아시아식생활학회	비SCI
3	Carotenoid profiling from 27 types of paprika(<i>Capsicum annuum</i> L.) with different colors, shapes, and cultivation methods	Food Chemistry	김선아	15	국외	Elsevier	SCI
4	Optimization by response surface methodology of lutein recovery from paprika leaves using accelerated solvent extraction	Food Chemistry	김선아	150	국외	Elsevier	SCI

나. 학술대회발표

- Quality Assessment of Fresh Paprika by Sensory Evaluation and Instrumental Analysis, 2014 춘계연합학술대회, 김선아 외 1인
- Optimization of Capsanthin Extraction from Red Paprika Using ASE by Response Surface Methodology, 2015 KoSFoST, 김선아 외 1인
- Quality Assessment of Fresh Paprika by Sensory Evaluation and Instrumental Analysis, 2015년도 춘계연합학술대회, 김선아 외 1인
- Qualitative and Quantitative Analysis of Carotenoids and Anthocyanins in Purple Paprika (*Capsicum annuum* L.), 2016 춘계연합학술대회, 김선아 외 1인
- Red paprika (*Capsicum annuum* L.) and its main carotenoids, capsanthin and β -carotene, prevent hydrogen peroxide-induced inhibition of gap-junction intercellular communication, 2016 IUFoST, 김선아 외 1인
- 파프리카의 색상별 카로티노이드 조성 비교, 2016 (사)한국식품조리과학회 추계학술대회, 김선아 외 3인

다. 특허

특허출원			
번호	특허명	출원번호	출원일자
1	조직배양 식물체의 대량순화 시설물	10-2016-0168338	2016.12.12
자원분양 및 DH line 분양			
1	자원분양 : 약배양 유래 31계통		
2	DH line 분양 : 약배양 및 shed culture 296개 약으로부터 유래된 541개 DH line 분양		

2. 활용계획

- 파프리카 유래 카로티노이드 표준분석법과 관능평가법을 활용하여 파프리카의 분자육종단계에서부터 소비자 유통에 이르는 전 과정에서의 품질관리를 위한 핵심 기술로 활용할 계획이다.
- 한국산 파프리카 신품종의 우수성을 알리고자 해외저명학술지에 한국산 파프리카 신품종 관련 논문을 지속적으로 투고·게재할 계획이다.
- 파프리카 유래 카로티노이드의 표준분석법과 관능평가법은 농업기술원, 종묘회사, 농협 등 직접적으로 신품종 개발과 관련된 업계, 학계, 연구기관으로부터 신품종 개발 및 육성에 따른 품질 평가를 지원할 계획이다.
- 종자 육종회사, 성분 분석팀 및 분자마커 연구소에 기술이전 및 육성소재 분양하며, 파프리카 종자의 수입대체를 목표로 한 다양한 파프리카 품종육성 및 보급한다.
- 소포자 배양에서 빈번하게 발생하는 오염원인 해결로 배양효율 증진하며, 소포자 배양에 적합한 모본재배조건 구명을 통해 수출용으로 특화된 품종 육성이 단기간에 완성되어 2021년 종자수출액 133만불 달성의 견인차 역할에 기여한다.

SUMMARY

I. Title

Development of breeding-based technology

II. Objective and significance

Paprika is very important vegetable improving health for consumer and earning a large income for producer. However, paprika seeds were mostly imported and we paid high royalties for seeds. Therefore, development of paprika seeds by own technology are very urgent issues. In addition, verification and promotion for superior quality of developed seeds are also important for having the competitiveness in global paprika market.

In this study, we tried to make guideline for carotenoids analysis and sensory evaluation as quality index of developed paprika seeds. at first we tried several conditions for carotenoids analytical conditions such as equipment, analytical column, solvents composition and gradients, oven temperature, flow rate, detection wavelength etc, considering structural similarity and lipophylic properties of carotenoids. And we made guidebook for carotenoid analysis and sensory evaluation for paprika which can be applied from breeding stage to harvesting stage.

Most of locally grown paprika varieties have been imported from multinational corporation in Europe and US. Spending paprika seeds was estimated to be about 13.1 billion won for 707ha, covering domestic paprika cultivated area by 2015. GSP project aims to development paprika variety for import substitution. As most of paprika seeds are imported, development of breeding resource using DH line is very important to variety breeding. Variety breeding is needed new technology and different resource so establish of microspore culture method would be able to provide various and need resources for variety breeding.

III. Scope of research

- Analytical methods for carotenoids originated from paprika and it's validation
- Development of tools for sensory evaluation of paprika
- Guideline for carotenoids analysis and sensory evaluation of paprika
- Analytical methods for lutein analysis from paprika leaves

- Analytical supporting of carotenoids from new paprika varieties
- Development of simultaneous analytical condition for flavonoids from paprika
- antioxidant and antidiabetic assessment of paprika extracts
- Method development of microspore culture for increase efficiency in embryogenic inductivity
- Method development of anther culture for inducing DH line
- Method development of shed culture for inducing DH line
- Development of acclimation equipment for improving acclimation rate of in vitro plantlet
- Offering service DH line to seed company and organ etc.
- Colletion and analysis for genetic resources

IV. Results

For the method development and validation of carotenoid analysis from paprika, we used an ultraperformance liquid chromatograph (UPLC) equipped with a HSS T3 column. Analysis was performed at 450 nm using gradient conditions with acetonitrile/methanol/methylene chloride (65/25/10) and distilled water. We improved the peak resolution and performed carotenoid analysis within 30 min. We qualitatively analyzed 11 carotenoids (neoxanthin, capsorubin, violaxanthin, capsanthin, zeaxanthin, lutein, α -cryptoxanthin, β -cryptoxanthin, lycopene, α -carotene, and β -carotene). For the validation of UPLC methods, we validated the precision and accuracy of capsanthin. Capsanthin showed good linearity ($R^2=0.9998$) in the concentration range of 1–200 $\mu\text{g/mL}$ with 2.4 and 7.2 $\mu\text{g/mL}$ of limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ), respectively. The relative standard deviation (RSD) for intra- and inter-day precision was less than 3.83%. Recovery was in the range of 91.86–99.87%. We quantitatively analyzed carotenoid contents from 8 different colored paprika (red, orange, yellow, and green). The most abundant carotenoids were capsanthin in red paprika, and zeaxanthin in orange, yellow, and green paprika.

For analyzing carotenoid composition of new paprika varieties, we investigated carotenoid profiles and contents from 27 types of paprika with different colors (red, orange, and yellow), shapes (blocky and conical), and cultivation methods (soil and soilless). We simultaneously analyzed 12 kinds of carotenoids using UPLC equipped with an HSS T3 column for 30 min, and we identified six kinds of carotenoids in red paprika and nine types in orange and yellow paprika. Zeaxanthin concentrations in orange paprika were in the range of $85.06 \pm 23.37 - 151.39 \pm 5.94$ mg/100 g dry weight (dw), which shows that

orange paprika is a great source of zeaxanthin. Generally, red paprika is a great source of capsanthin. However, a new cultivar, 'miniGoggal Red' contained large amounts of zeaxanthin (121.41 ± 30.10 mg/100 g dw) even though its visible color is red. This is very meaningful considering that consumers have a preference for red color and the potent functional value of zeaxanthin. Carotenoid profiles and concentrations in blocky and conical type paprika were not significantly different in red paprika except the 'ini Goggal Red' cultivar and yellow paprika. Blocky type orange paprika contains plenty of zeaxanthin, unlike conical type orange paprika. Three new cultivars of the conical type were cultivated in both soil culture and soilless culture in the same province, and carotenoid profiles and concentrations were similar, showing that both cultivations methods can be used. For analytical supporting of new paprika varieties, we received 3 red, 3 yellow from nongwoo, 8 red, 4 orange, 10 yellow from Samsung seeds Co., Ltd., 30 red, 9 orange, 17 yellow, 6 pale yellow, 6 deep yellow, 1 purple from agricultural research and extension services in Gyeongsangnam-Do, 1 purple, 1 brown, 1 white from Nongsan trading Co., Ltd., and analyzed carotenoid profiles for the quality index of paprika.

For the development of sensory evaluation tools for paprika, we performed to improve the quality index of paprika by assessment of instrumental test and sensory attributes. Red paprika (11 cultivars), orange paprika (9 cultivars), and yellow paprika (10 cultivars) were provided by GyeongNam (GN) and JeonBuk Agricultural Research and Extension Services (JB). We measured hardness and color values using a colorimeter and TPA as well as developed new terminology such as cucumber taste, grass taste, green pepper flavor and appearance (size, color size, color, and glossiness), texture (hardness, juiciness), and taste (sweetness, pungency, sourness) to describe paprika quality attributes by trained panels. a^* value of red 'Nagano' cultivar provided by JB was significantly low, and only b^* value of orange paprika was significantly different among the samples. In the case of yellow paprika, b^* values were not significantly different, and hardness was significantly different. Overall color values were different among samples provided by GN. Oranos, orange paprika, L value, b value, and hardness were different among the samples. Bitterness was negatively correlated with sweetness and positively correlated with green pepper aroma ($p < 0.05$). Overall acceptability was positively correlated with size, juiciness, and sweetness ($p < 0.01$) and negatively correlated with pungent ($p < 0.05$) and bitterness ($p < 0.01$). In conclusion, negative attributes such as bitterness and pungentness as well as positive attributes such as size, juiciness, and sweetness must be considered as important factors for consumer preference and breeding of new cultivars.

For applying accelerated solvent extracton(ASE) in the extraction of carotenoids, we used response surface methodology (RSM) to optimize the extraction conditions for recovering lutein from paprika leaves using accelerated solvent extraction (ASE). The lutein content was quantitatively analyzed using a UPLC equipped with a BEH C18 column. A central

composite design (CCD) was employed for experimental design to obtain the optimized combination of extraction temperature(°C), static time (min), and solvent (EtOH, %). The experimental data obtained from a twenty sample set were fitted to a second-order polynomial equation using multiple regression analysis. The adjusted coefficient of determination (R²) for the lutein extraction model was 0.9518, and the probability value (p = 0.0000) demonstrated a high significance for the regression model. The optimum extraction conditions for lutein were temperature: 93.26 °C, static time: 5 min, and solvent: 79.63% EtOH. Under these conditions, the predicted extraction yield of lutein was 232.60 lg/g.

For the method development of microspore culture for increase efficiency of embryogeny : The optimum yield condition of microspore is to sieve with pore size 45µm Sieve after simultaneously Blending(steel waring blender container 20mL, DAIGGER) and vortexing.

For the effect of ovary on microspore culture infection : Microspore culture was contaminated for 83% by using sterilized all flower bud, not infected with only sterilize anther and sepal without calyx and ovary.

For the pretreatment and Media : Inoculated flower bud was placed for 1 day and 3 days in 4°C and 32°C respectively. We did not investigate cell division for 3 days in 4°C, but there was cell division in 32°C and more efficient 3 days than 1 day. The optimum pretreatment media condition was NLN media without sugar adding 0.0037M mannitol.

For the effect of mother plant's genotype and culture condition on microspore cell division : The yield rate of microspore was high in mother plant's material which induced embryogenic after cell division.

The effect of culture media and plant growth regulator : Globular shape and cell cluster were produced better NLNS than C media. Embryogenic inductivity was higher hormone untreated media than hormone added media.

Culture method and culture density for microspore : Globular shape and cell cluster were produced better NLNS than C media. Cell cluster formed fast but cease exist in the high density condition(1×10^5 /ml), was investigated embryogeny in the low density(5×10^4 /mL).

The effect of plant growth regulator on embryogeny : The optimum media for embryogeny are C2, C4, and C5 with 0.1 ppm of PGR concentration. We didn't investigate embryogeny in C1(1.0ppm of 2,4-D and kinetin) and C3(0.01ppm of 2,4-D and NAA) media.

The effect of temperature on embryogeny : Embryogeny by temperature condition

showed 0.64% in the second day, 0.22% in the fifth day, and 0.73% in the eighth day. The treatment for 2 or 8 days were more effective than 5days. Embrogenesys were lager for about three time in 32°C than 30°C.

Method development of anther culture for inducing DH line : Embryogeny showed from 0.0% to 4.9% by genotype that has a strong affect embryogeny. Method development of shed culture for inducing DH line : Embrogenesis of TSWV resistance variety was investigate by 9.3% in shed culture using double layer media with solid and liquid. We have been developed Microponic Acclimatization System for mass acclimatization of plants derived from tissue culture and microspore, applied for a patent on its system.

Offering service DH line to seed company and organ etc. : Total number of 31 plants derived from anther culture were offered in one year and second year. Total number of 229 DH lines derived from number of anther culture were offered in third year. Total number of 677 plants derived from number of 312 DH lines by anther and shed culture were offered in fourth year.

Collection and analysis for genetic resources : Total number of 27 genetic resources were collected from New Zealand, Australia, Mexico from 2013 to 2015, for 3 years. We harvested F2 generation seed and tested its characteristics by selfing and testing in the collected genetic resources. Genetic resources with useful gene were used as culture material for production DH line.

V. Application of results and further plan

1. Application of results

1) Publication

- Carotenoid profiling from 27 types of paprika(*Capsicum annuum* L.) with different colors, shapes, and cultivation methods, Food Chemistry, 15, Food Chemistry 201(2016) 64 - 71.
- Jae-Hyun Kang, Suna Kim, Bokyung Moon, Optimization by response surface methodology of lutein recovery from paprika leaves using accelerated solvent extraction, Food Chemistry, 205(2016), 140-145.
- Sun Mee Lee, Ji-Sun Kim, Chul Geon An, Jong-Suk Park, Suna Kim, Assessment of paprika quality by instrumental parameters and sensory attributes, J East Asian Soc Dietary Life, 26(2016), 34-43.

- Jeong Rok Hwang, In Kyeong Hwang, Suna Kim, Quantitative analysis of various carotenoids from different colored paprika using UPLC, Korean J. Food Sci. Technol., 47(2015), 1-5.

2. Further plan

Research results will be used to the quality control of pigment originated from carotenoid profiles and sensory attributes for the development of new paprika varieties. Advanced carotenoid separating technology and analytical supporting data will be published to the famous journals for promoting the superiority of new paprika varieties and validation of analytical techniques.

Guidelines for analytical methods will be released for the standardization of analytical techniques and for easily used to the seeds companies, institutes, university.

CONTENTS

Chapter 1	Project outline and performance goal	29
1.	Objective and significance	29
2.	Scope of research	33
3.	Research Goal and performance	36
Chapter II	Current technology trends	37
Chapter III	Research contents	41
1.	Method development and validation for carotenoid analysis from paprika	41
2.	Method development for the sensory evaluation of paprika	70
3.	Standardization of carotenoid analysis process and sensory evaluation of paprika	76
4.	Method development and validation for lutein recovery from paprika leaves	80
5.	Analytical supporting for carotenoid profiling of newly developed paprika	86
6.	Simultaneous analysis of flavonoids from paprika	103
7.	Antioxidant and antidiabetic effect of paprika	109
8.	Method development of microspore culture for increase efficiency in embryogenic inductivity	113
9.	Method development of anther culture for inducing DH line	129
10.	Method development of shed culture for inducing DH line	134

11. Development of acclimation equipment for improving acclimation rate of in vitro plantlet	138
12. Offering service DH line to seed company and organ etc.	141
13. Colletion and analysis for genetic resources	144
Chapter 4 Achievement of goal and contribution	148
Chapter 5 Outcomes and application plan	149
Chapter 6 Collected global scientific information	152
Chapter 7 References	154
<Affixation 1> Patents, papers, market analysis report	163
<Affixation 2> Guideline for carotenoid analysis from paprika	170
<Affixation 3> Guideline for the sensory evaluation of paprika	201
<Affixation 4> Published paper list	226

목 차

제 1 장	프로젝트의 개요 및 성과목표	29
제 1 절	연구개발의 목적 및 필요성	29
제 2 절	연구 범위 및 내용	33
제 3 절	연구성과 목표 대비 실적	36
제 2 장	국내외 기술개발 현황	37
제 3 장	연구개발수행 내용 및 결과	41
제 1 절	파프리카 유래 카로티노이드 표준분석법 확립	41
제 2 절	파프리카의 관능적 품질 평가	70
제 3 절	파프리카의 카로티노이드 분석과 관능평가를 위한 표준분석법(SOP)	76
제 4 절	파프리카잎 유래 루테인의 추출 분리 및 분석 조건 검증	80
제 5 절	파프리카 신품종의 카로티노이드 분석 지원	86
제 6 절	파프리카 유래 플라보노이드 동시 분석	103
제 7 절	파프리카 추출물의 항산화·항당뇨 활성	109
제 8 절	배발생 효율 향상을 위한 소포자 배양 기술 개발	113
제 9 절	조기 DH line 확보를 위한 약배양 기술 확립	129
제 10 절	조기 DH line 확보를 위한 Shed culture	134

제 11 절 유기 식물체 순화율 향상을 위한 순화장치 개발	138
제 12 절 유기 DH line의 서비스 및 분양	141
제 13 절 유전자원의 수집 및 분석	144
제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	148
제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획	149
제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	152
제 7 장 참고문헌	154
<붙임1> 특허, 논문, 제품(시장) 분석보고서	163
<붙임2> 파프리카 유래 카로티노이드의 정성·정량 분석법	170
<붙임3> 파프리카의 관능검사법	201
<붙임4> 게재논문	226

제 1 장 프로젝트의 개요 및 성과목표

제 1 절. 연구개발의 목적 및 필요성

- 파프리카는 과육이 두터워 식감이 뛰어나고 단맛과 신맛의 조화로 고유의 풍미를 지니며 비타민, 무기질, phytochemicals 등 영양적 가치가 우수하며 색상이 다양하여 생과뿐만 아니라 조리 후 음식의 색감을 향상시키는 식재료로 주목받고 있다.
- 파프리카는 1990년대 중반 수출 주력 품목으로 성장하면서 고소득 작물로 발전하였으며 파프리카 수출액이 2008년 5,417만불에서 2015년 8,515만달러로 성장세를 지속하고 있다. 국내에서는 웰빙 소비트렌드가 형성되면서 파프리카가 영양분이 풍부하면서도 대사증후군을 개선하는 데 효과적인 작물로 인식되면서 2006년 이후에는 파프리카 생산량의 60% 가량이 국내에서 소비될 정도로 인지도와 소비가 증가하였다.
- 일반적으로 수출 또는 소비되고 있는 파프리카의 품질지표기준은 SS(100~119g), S(120~144g), M(145~179g), L(180~250g), XL(250g이상)의 5단계로 선별하며 색택이나 표면의 상처 등 외형에 따라 내수용과 수출용으로 구분한다. 포장단위는 5kg 골판지박스에 XL(22개 이하), L(26개), M(30개), S(38개), SS(46개) 등으로 구분하여 색상별로 포장된다. 유통단계에서의 소포장은 날개 혹은 2개, 3~5개입 등으로 대형유통업체의 요구에 의해 포장된다.
- 국내 파프리카의 주요 생산지는 2013년 기준으로 경남, 강원, 전북과 전남의 순이며 경남의 파프리카 재배면적은 전국의 35%를 차지하고 생산량의 50%이상을 수출하고 있다. 파프리카는 시설재배로 단위면적당 소득이 높아 재배면적과 생산량이 지속적으로 증가하는 작물이다. 우리나라는 파프리카는 과경이 9~10 cm인 블로키 타입이 주로 유통되고 있으며, 소비자의 다양한 요구에 부합하기 위한 품종개량의 노력으로 먹기 좋은 한입 크기(20~40g)의 코니컬 타입의 미니파프리카 재배량이 크게 증가하고 있다 (Shestha, Luitel, Kang 2011).
- 2011년 이후 세계 경제침체와 함께 일본 수출이 둔화되기 시작하였으나 2000년부터 2015년까지의 통계를 살펴보면 재배면적, 생산량, 수출량, 수출액 모두 증가한 것으로 나타났고, 2015년 총재배면적은 2000년 1대비 재배면적 707ha, 생산량 73,000여톤, 수출액 8,520만불로 모두 증가하는 경향을 보였다. 그중에서 내수비중은 2000년 9% 대비 2015년 60%까지 급격히 증가하는 경향을 보였다. 향후 국내 파프리카 시장은 크게 성장하지는 않겠지만 꾸준한 재배면적과 내수시장 확대 및 수출이 확대될 것으로 기대된다.

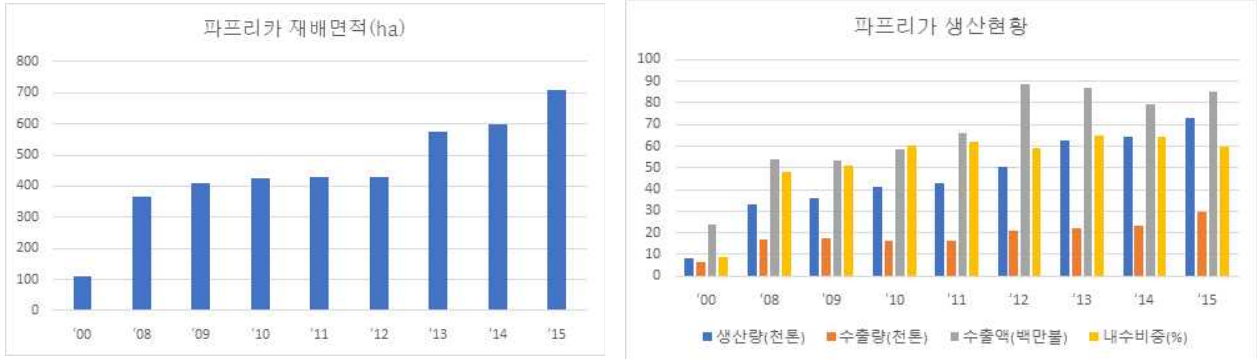


그림 1. 파프리카 연도별 재배면적 및 파프리카 생산현황

- 2010년 이후에도 파프리카의 수출은 여전히 일본시장을 주요 타겟으로 하여 일본 파프리카 수입량의 60%이상을 한국산이 점유하고 있으며 홍콩, 대만, 러시아 등은 소량 수출이 이루어지고 있어 수출시장의 다변화가 아직까지 미진한 상태이다.
- 새로운 파프리카 수출시장의 개척은 범정부적 차원에서 이루어지고 있다. 농협에서는 2010년부터 호주시장 공략을 시작하여 2011년도 20만달러의 수출실적을 올렸으며 일본에 이은 제2의 파프리카 수출시장으로 육성하기 위해 노력하고 있다(<http://olv.moazine.com>). aT에서는 파프리카 수출시장의 다변화를 위해 2013년에 농식품 수출 시장의 중심지인 홍콩에서 파프리카 홍보 활동을 하였으며 대만, 싱가포르 등 동남아시아권으로 시장을 확대하기 위한 노력을 기울이고 있다. (<http://www.gtrade.or.kr>).

표 1. 파프리카 주요 수출시장 규모 및 수출 점유율(2015년)

구분	국가명	시장규모(천톤)		한국산 수출(천톤)		
		생산량	수입량	수출물량	점유율(%)	경쟁국
주요수출국	일본	3.7(P)	39,824	28,839	72.4	네덜란드, 뉴질랜드
수출가능국	홍콩	-	1,238	47	3.8	중국, 태국
	대만	17(P)	2,878	25	0.9	중국
	러시아	-	128,746	6	-	베트남

출처: 농수산물수출지원정보 www.kati.net

- 재배 품종 특성을 살펴보면, 현재 파프리카 품종은 유럽 및 미국의 다국적 기업으로부터 전량 수입되고 있으며 ha 당 종자 구입비는 약 19,500 천원으로 추정되어 국내 파프리카 재배면적 707ha에 필요한 종자 구입비는 약 138억원 정도로 재배면적 확대와 더불어 종자 수입비용이 더욱 증가할 것으로 판단되며 수입대체를 위한 신품종 개발이 절실한 실정이다.
- 품종별 재배비율은 적색품종이 62%, 황색 31%, 주황색 7%이며 적색 품종에서는 Veyron (Enza Zaden), 황색 품종에서는 Coletti (Enza Zaden), 주황색 품종에서는 Orangy glory (세미 니스)가 가장 점유율이 높다. 이들 품종은 세계적으로 판매되는 우량 품종이나 파프리카의 재배 기술이 주로 겨울 작형에 맞춰져 있어 실제로 여름 작형 농가에서는 적용하기 어려움이 있으며 또한 여름 재배 기간 중 저 일조, 고온, 다습 등의 지상 환경 요인에 따른 수분관리의 어려움이 파프리카 고품질 다수확을 떨어뜨리는 요인이 되고 있어 다양한 작형 및

국내 환경에 적합한 품종의 개발이 필요하다.

- 전세계 고추시장의 약 40%를 단고추가 차지하고, 북미, 유럽시장이 대부분 차지하고, 아시아 시장은 매운 고추가 85%, 단고추가 약 13%, 단고추 재배면적이 해마다 증가, 파프리카를 포함하는 단고추의 생산량은 스페인, 미국, 터키, 네덜란드, 멕시코 등이 전 세계 파프리카 주요 생산국이다. 품종군 별로는 단고추 중 blocky type의 파프리카가 종자시장의 55% 가량을 차지하며 압도적으로 크며, lamuyo type 파프리카와 피망은 각각 24%, 21%를 차지하고 있다.
- 현재 파프리카 품종은 유럽 및 미국의 다국적 기업으로부터 전량 수입되고 있으며 ha당 종자 구입비는 약 18,500천원으로 추정, 국내 파프리카 재배면적 2015년 707ha에 필요한 종자 구입비는 약 131억으로 추정한다. 품종별 재배비율은 적색품종이 62%, 황색 31%, 주황색 7%, 적색품종에는 Veyron(Enza Aaden), 황색품종 Coletti(Enza Zaden), 주황색 Orange glory(세미니스)가 가장 높은 점유율을 보이고 있다.
- 이들 품종은 세계적으로 판매되는 우량품종이나 파프리카의 재배 기술이 주로 겨울 작형에 맞춰져있어 실제로 여름 작형 농가에서는 적용하기 어려움이 있으며, 여름재배 중 저 일조, 고온, 다습 등의 기상 환경 요인에 따른 수분 관리의 어려움이 파프리카 고품질 다수확을 떨어뜨리는 요인이 되고 있어 다양한 작형 및 국내 환경에 적합한 품종의 개발이 필요하다 (GSP 파프리카 상세기획보고서)
- 이와 같이 한국산 파프리카 시장의 국내외 성장이 두드러짐에도 불구하고 아직까지 파프리카 종자의 해외의존도가 95%이상으로 종자수입에 종자비 지급이 매우 큰 상태이며 이는 국내 생산량 증가와 함께 더욱 증가할 것으로 전망된다. 따라서 자국의 환경에 적합한 종자 개발 및 보급은 종자산업의 경쟁력 측면뿐만 아니라 국민의 건강하고 안정된 소비 환경 조성 및 생산자 보호 측면에서도 매우 시급한 것으로 사료된다.
- 파프리카는 골드씨드프로젝트 사업에서 수입대체를 목표로 파프리카프로젝트는 수경재배용 고품질 품종을 육성하여 국내 파프리카 겨울 재배 작형 종자시장 점유율 45%, 여름 재배작형 종자 시장점유율 50%, 유럽 수출 5억원 달성을 목표로 하고 있다. 막대한 로열티를 지불하게 되는 기존 해외 품종에 비해 저렴한 파프리카 종자를 공급함으로써 국내 파프리카 산업 활성화 및 수출시 가격 경쟁력 향상, 로열티 부담 경감, 국내 환경조건에 적합한 맞춤형 파프리카 품종의 개량 필요성이 있다.
- 파프리카 종자의 자국화에 있어서 가장 중요한 요인 중에 하나는 품질 우수성이다. 특히 국내 생산 농작물 중 대표적인 수출 품목으로 자리매김하고 있고 네덜란드, 뉴질랜드, 중국, 태국, 베트남 등과 국제적인 경쟁력을 갖추어야 하는 상황을 고려할 때 국내뿐만 아니라 국제시장에서 소비자의 요구에 부합할 수 있는 고품질 품종의 개발 및 육성이 매우 중요하다.
- 파프리카의 품질은 생산, 재배 측면뿐만 아니라 파프리카 품종 자체의 화학적, 생물학적 우수성 등을 고려하여야 한다. 파프리카의 색상은 카로티노이드계열로 색상에 따라 다양한 카로티노이드가 검출되고 있으며 이외에도 비타민C, 비타민 E, 플라보노이드, 무기질 등이 풍부하여 건강에 매우 도움이 되는 대표적인 원예작물이다.

- 특히, 파프리카 유래 카로티노이드 중에서도 적색파프리카에 다량 함유되어 있는 캡산틴은 체내 항산화 활성 및 혈중 지질 개선 등의 효과가 보고되고 있으며, 노란색계열의 색소인 루테인과 제아잔틴은 안구의 황반변증에 효과적으로 건강기능식품으로 개발되어 판매되고 있다. 노란색 계열의 베타-크립토잔틴은 윈스터 렛트에서 난소질체에 따른 골밀도 손실에 대한 예방효과가 보고되고 있다.
- 따라서 자국의 파프리카 종자 개발에 있어서 영양성과 기능성뿐만 아니라 소비자의 기호성을 충족시킬 수 있는 고품질 파프리카를 생산하여야 하며 카로티노이드는 이를 검증할 수 있는 지표성분으로 이를 정확하게 분석할 수 있는 기술개발이 필요하다. 지금까지는 카로티노이드의 대표성분인 베타-카로틴을 지표성분으로 논하여 왔으나 파프리카는 색상별로 다양한 조성의 카로티노이드를 함유하고 있으므로 이를 정성적, 정량적으로 분석하여 색상별 지표성분을 명확히 하고 카로티노이드 프로파일링을 통해 전체적인 색상에 영향을 미치는 개별 성분의 정량적 평가 연구가 필요하다.
- 자국의 고품질 파프리카 품종의 개발을 위해서는 신품종 개발과정에서 분자육종 및 품질평가 기술의 접목이 이루어져야 하며 이는 파프리카 신품종의 개발 및 시험생산 과정에서 향후 상업적으로 유통되기 전 품질을 예측할 수 있는 기술로 활용될 수 있고 나아가 파프리카의 수확 후 품질관리에 요구되는 품질지표로서 활용할 수 있는 기반기술의 구축이 절실하다.
- 또한 파프리카 생산이 전국단위로 이루어지고 생산농가가 증가하고 있는 점을 고려하여 파프리카 고유의 품질 지표인 카로티노이드 분석기술 개발 및 이를 통한 표준분석법(SOP)을 확립함으로써 품질검증을 하고자 하는 유관기관이나 기업에서 활용할 수 있도록 기술 지원한다면 신품종 개발에 따른 품질 검증이 원활하게 이루어질 수 있을 것으로 사료된다.
- 따라서 본 과제에서는 파프리카의 객관적이고 신뢰할 수 있는 품질 지표 설정 및 분석 기술 확립을 위해 파프리카의 화학적, 관능적 특성에 대한 객관적 평가 지표 확립하고 파프리카 신품종 개발에 따른 품질분석 지원을 수행하며 카로티노이드의 표준분석법을 확립하여 유관기관에서 활용할 수 있도록 가이드라인을 제시하는 것을 목표로 한다.
- 또한, 대부분의 도입품종이 유럽재배 환경에 최적화되어있어 계절별 기후 및 재배조건이 다른 국내 환경에서 착과력 저하, 각종 생리장애 발생 등 문제점이 빈번하게 발생되며, 재배 작형의 다변화, 수출용 품종육성을 위한 기반마련, 유럽시장진출을 위한 기반마련이 주요목표이다. 대부분의 품종을 수입하고 있는 실정에서 육종소재개발은 품종육성에 매우 중요한 과제로 소포자 배양 기술의 확립에 의하여 품종육성에 필요한 풍부한 재료를 제공할 수 있는 기술을 개발하고자 한다.

제 2 절. 연구 범위 및 내용

- 파프리카에서 유래하는 다양한 색상은 주로 카로티노이드에서 유래하는 성분으로 파프리카로부터 각각의 카로티노이드를 효율적으로 분리, 분석하기 위한 조건을 설정하고 개별 파프리카 색상별 주요 성분을 중심으로 하는 분석 조건을 확립하여 다양한 색상을 동시에 분석할 수 있는 분석 조건을 확립코자 하였다. 카로티노이드의 추출을 위해서는 가압추출장치(Accerelated solvent extraction, ASE)를 활용하여 고압조건에서 단시간에 추출하는 방법을 모색코자 하였으며 카로티노이드의 정성 분석을 명확히 하기 위해 UPLC를 활용하였다.
- 파프리카는 주로 생과 형태로 유통, 소비되고 있으므로 화학적 품질평가법과 달리 수확과 동시에 품질을 평가할 수 있는 관능적 품질 평가법의 확립은 소비자 기호에 부합할 수 있는 우수한 품질의 파프리카 육종 및 선별에 활용될 수 있는 방법이다. 본 연구에서는 소비자가 파프리카를 섭취하면서 오감으로 감지하는 외관특성, 색상, 향기특성과 입안에서 저작하는 동안의 맛, 풍미, 조직감 등을 묘사할 수 있는 속성을 파악하여 관능검사 설문도구를 개발하고 이를 파프리카에 적용하여 수확 후 관리 및 소비자 기호성 증진에 활용할 수 있다.
- 파프리카의 품질 분석 적용을 위해 다양한 품종과 색상의 파프리카를 수집하였으며 파프리카의 특징적인 다양한 색상을 정성적, 정량적으로 분석하고자 하였다. 또한 개발된 관능평가도구를 활용하여 관능평가를 실시하고 동시에 색차계, 조직감 측정기를 활용하여 기기적 평가를 실시하여 그 결과를 비교함으로써 종묘회사, 농업기술원 등에서 육성하고 있는 신품종을 동시에 다량의 시료를 신속히 분석하기 위한 방법, 특정 성분을 중심으로 한 분석법 등 맞춤형 분석법을 제시코자 분석법을 보완하였다.
- 반수체를 이용한 식물 육종은 콜치신 처리 등과 같은 방추사 생성억제제를 처리에 의하여 단세대에 100% 동형접합자인 배가 반수체(Doubled haploid)를 만들 수 있으므로 식물 육종에 매우 유용하게 이용될 수 있다. 반수체를 인위적으로 생산할 수 있는 방법으로 가장 널리 이용되고 있는 것은 약배양과 소포자 배양이며, 배추과에서는 약배양이 오래전에 실시되었고, 현재는 소포자 배양에 의한 DH line을 육종에 널리 이용하고 있다.
- 가지과인 피망은 1981년 Dumas De Vault 등에 의하여 약배양에 성공한 보고가 있고, 1990년 윤 등에 의하여 고추약배양이 성공하였으며, 그 DH line을 이용하여 (주)농진종묘에서 고추 약배양 유래식물체를 이용한 품종육성이 진행되었다. 소포자 배양에 관하여는 2007년, 2010, 2011년 김 등에 의하여 고추에서 배발생 및 식물체 유기에 대한 보고되었으며, 2012년 Csaba Lantos 등에 의하여 sweet pepper의 소포자 배양이 보고되어있지만, 소포자유래 DH line을 대량생산하여 육종에 이용하였다는 보고는 되어있지 않다.
- 소포자 배양 기술은 국내에는 고추에 대한 약배양이 90년대 초에 이루어져 고추약배양이 품종육성의 육종연한 단축의 한 방법으로 적극적으로 활용되고 있으나 배발생 효율을 높이고, 배양노력 등을 적게 필요한 소포자 배양방법 개발이 필요하다. 국내는 파프리카에 대한 약배양 및 소포자 배양은 전혀 이루어지지 않았고, 고추에 대하여는 최근에 소포자 배양이 이루어졌으나 ELS 및 Calli의 발생은 높은 편이나 정상 식물체로의 전환이 매우 낮다.

- 외국에서는 헝가리 등에서 sweet pepper에 대한 연구보고가 발표되고 있으나, 역시 ELS 및 calli의 발생은 높으나 정상식물체로의 유기율이 낮은 것으로 보고되었다. 본 과제를 통하여 파프리카의 DH line의 육종재료 이용을 위하여 조기 DH line 확보를 위한 약배양 방법을 개발하고, 배양효율을 향상시킬 수 있는 소포자 배양 방법을 개발하고자 한다.
- 파프리카 유래 카로티노이드 분석법 검증 및 확립, 분석지원
 - 가압추출장치 활용 파프리카 유래 카로티노이드의 추출조건 확립
 - UPLC 활용 카로티노이드 정성, 정량법 확립 및 검증
 - 신제품 파프리카의 카로티노이드 분석 지원
- 파프리카의 관능적 품질 평가
 - 파프리카의 관능 평가 위한 속성 정의 및 파프리카용 관능평가지 개발
 - 다양한 파프리카의 관능적 평가 수행
- 파프리카의 카로티노이드 분석 및 관능평가를 위한 표준분석법(SOP) 제시
 - 생파프리카의 전처리부터 카로티노이드의 정량 분석 위한 표준 가이드라인제시
 - 파프리카 표준분석(SOP) 체계 확립 및 적용·보완
- 파프리카 잎 유래 루테인의 추출 분리 및 분석 조건 검증
 - 파프리카 잎으로부터 루테인 추출 조건 실험 모델 설계 및 최적화
 - 루테인 신속 분석 조건 확립
- 파프리카 유래 플라보노이드 동시 분석 조건 설정
 - 파프리카 유래 플라보노이드 탐색, 주요 플라보노이드 확인
 - 플라보노이드 동시분석 조건 설정 및 적용
- 파프리카 추출물의 항산화 항당뇨 활성
 - 파프리카 추출물의 ABTS 라디칼 소거능 평가, DPPH 라디칼 소거능 평가
 - 파프리카 추출물의 AGI 항당뇨 활성 비교
- 조기 DH line 확보를 위한 약배양 기술 개발
 - 품종 및 배지가 배발생에 미치는 영향 구명
 - 재배환경이 배발에 미치는 영향 구명

- 배발생 효율 향상을 위한 소포자배양 기술 개발
 - 소포자 나출방법, 치상밀도 구멍(Maceration and Blanding and vortexing)
 - Ovule이 소포자 배양에서 오염에 미치는 영향(Anther+Petal, 화퇴)
 - 전처리 조건 및 전처리 배지구멍(전처리온도 및 전처리 배지)
 - 모본의 재배조건 및 유전자형이 소포자 분열에 미치는 영향
 - 치상배지, 식물생장조절물질, 치상방법, 배양방법이 배발생에 미치는 영향
 - Co, shed-culture 효과구멍
 - 치상. 배양방법. 배양조건 구멍
- 유기 식물체의 순화율 향상을 위한 순화장치 개발
- 수집 유전자의 분석 및 유기 DH line의 기업체 및 기관 서비스
 - 유전자원의 수집 및 분석(뉴질랜드, 호주, 멕시코, 미국, 터키 Capsicum annum 수집)
 - 2013년도 수집종자의 selfing 세대 진전

제 3 절. 연구성과 목표 대비 실적

구분	품종 개발		특허		논문		S O P	성분 분석	유전 자원		DH 계통 개발	자원 분양	기술 이전	마케팅 전략 수립 보고서	인력 양성
	출원	등록	출원	등록	SCI	비SCI			수집	등록					
최종목표			1		1	3	2	200			500	30			2
1차년도								60	14			10			1
2차년도						1		102	13			21			
3차년도					1			200			229				1
4차년도			1		1	1		300			312				
합 계			1		2	2	2	662	27		541	31			2

제 2 장 국내외 기술개발 현황

- 파프리카는 붉은색, 노란색, 주황색, 녹색뿐만 아니라 최근에는 자색, 백색, 브라운색 등 다양한 색상이 유통되고 있으며, 형태 역시 블로키형과 미니형, 피노키오형 등 다양한 형태가 판매되면서 소비자의 선택의 폭이 넓을 뿐만 아니라 지역에 따라 겨울작형, 여름작형으로 나뉘어 일 년 내내 소비되고 있어 국민의 식생활에 매우 영향력이 있는 과채류로 성장하였다. 특히 파프리카는 과일을 대체할 수 있는 채소류로 비타민, 무기질, phytochemicals 등이 풍부하고 건강에 유익한 효과가 다수 보고되면서 건강에 도움이 되는 대표적인 채소로 자리매김하였다.
- 파프리카의 다양한 색상 발현은 카로티노이드에 의한 것으로 카로티노이드는 40개의 탄소에 의한 8개의 이소프렌 분자를 기본으로 한다. 600여종이 동식물, 해조류, 균류 등으로부터 확인되었으며 지용성색소로 구조 중에 산소가 없는 카로틴류와 산소가 있는 크산토펴류로 구분된다. 파프리카에는 적색파프리카에는 capsanthin과 캡소루빈, 노란색과 주황색 파프리카는 루테인과 zeaxanthin, 녹색파프리카는 lutein이 대표적이다.

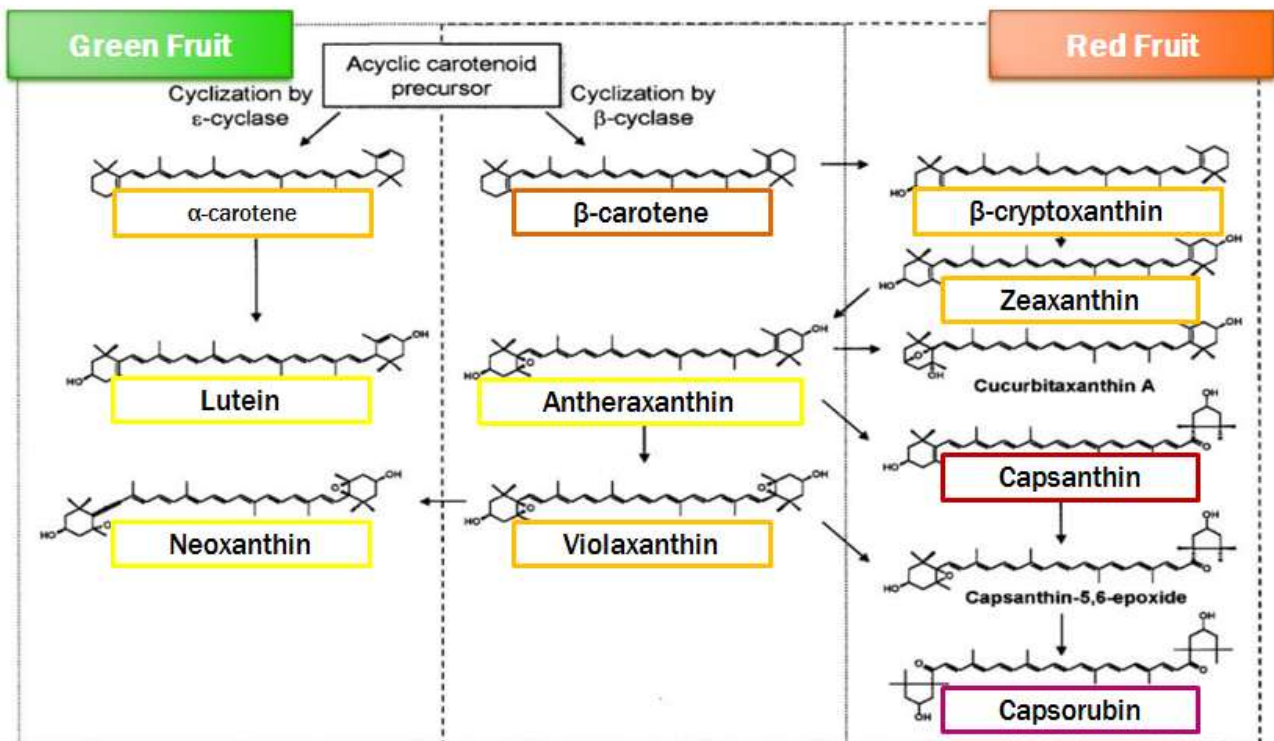


그림 2. 파프리카 유래 카로티노이드의 종류

- 최근 파프리카에서 유래하는 카로티노이드의 기능성에 대한 연구가 다수 보고되고 있다. 적색파프리카에 다량 함유되어 있는 캡산틴은 체내 항산화 활성 및 혈중 지질 개선 등의 효과가 보고되고 있으며, lutein과 zeaxanthin은 안구의 황반변증에 효과적으로 건강기능식품으로 개발되어 판매되고 있다. 베타-크립토잔틴(2014)은 윈스터 랫트에서 난소절제에 따른 골밀도 손실에 대한 예방효과가 보고되고 있다.
- 그러나 카로티노이드는 지용성색소이며 상대적으로 분자량이 크고 구조가 매우 유사하여 정

성적, 정량적 분리, 분석이 매우 어려운 성분이다. 특히 과실의 숙성과정에서 카로티노이드가 지방산과 결합하면서 지용성이 더욱 안정화되기 때문에 추출 및 분리과정에서의 정밀성과 분리, 분석의 정확성이 필요하다. 개별 카로티노이드가 고유의 기능성이 검증되고 HPLC보다 성분의 분리능, 분석시간, 노동력, 유기용매 사용량 등의 측면에서 효율성이 증진된 UPLC가 등장하면서 카로티노이드 분석기술이 더욱 발전하고 있다.

- UPLC(Ultra performance liquid chromatography)는 HPLC보다 충전 입자의 크기가 1.7~1.8 μm 로 작으며 높은 압력(최대 15000 psi)에서 분석을 하기 때문에 분석 시간을 단축하고 분리능을 높일 수 있다. Liu 등(10)은 HPLC와 UPLC를 이용하여 마리골드로부터 lutein과 zeaxanthin을 분석하는 연구를 통해 UPLC로 분석을 하면 시간을 50% 이상 감소시켰고 두 카로티노이드를 완전히 분리하여 분리능 개선에도 효과적임을 보고하였다. Fu 등(11)은 *Dunaliella salina*로부터 UPLC/MS를 이용하여 19종의 카로티노이드를 동정하였고 이 중에서 lutein이 가장 많이 함유되어 있었으며 검출한계 값과 정밀성을 검증하였다. Chauveau-Duriot 등(12)은 UPLC를 이용하여 xanthophylls의 분리능을 향상시켰으며 lutein과 zeaxanthin, β -carotene의 isomer를 분리하고 그 방법을 검증하였으나 시간을 단축하지는 못하였다. Murillo 등(13)은 C30 컬럼이 장착된 HPLC-DAD-MS를 이용하여 열대 과일로부터 32종의 카로티노이드를 분석하였는데 130분의 분석 시간이 소요되는 결과를 보고하였다. Kevrean 등(15)은 Capsicum 종으로부터 Zorbax SB C18 컬럼이 장착된 HPLC-DAD를 이용하여 32종의 carotenoids를 동정하였으나 capsorubin, violaxanthin, capsanthin, antheraxanthin의 피크가 분리되지 않아 숙성과정에서의 변화추세만을 보고하였다. 따라서 파프리카가 색상별로 다양한 카로티노이드 종류가 함유되어 있는 점을 감안할 때 파프리카 유래 카로티노이드를 동시에 효율적으로 분석할 수 있는 조건의 확립이 필요하다.
- 파프리카 유래 카로티노이드는 분석기술 뿐만 아니라 파프리카로부터 카로티노이드를 추출하는 과정이 매우 중요하다. 전통적으로는 헥산, 아세톤 등의 유기용매로 색상이 완전히 추출될 때까지 암소에 두는 방법을 활용하였으나 이 경우 독한 유기용매의 사용량이 매우 많고 추출자체에 시간이 많이 소요되는 단점이 있다. 가속용매추출장치(ASE, Accelerated solvent extraction)는 고온, 고압의 조건에서 단시간에 물질을 추출하는 방법으로 노동력을 덜 사용하는 자동화된 처리과정으로 추출을 한다. 이 방법은 반복성과 재현성이 뛰어나 기능성 물질의 추출에 매우 효과적이다(Richter, Jones, Ezzell, & Porter, 1996).
- ASE 방법은 온도가 증가함에 따라 추출용매의 용해성과 확산성이 증가되어 시료 내에 침투가 효율적으로 일어나며 전통적인 방식과 비교할 때 자동화 처리과정과 추출효율, 목표물질의 회수율 등이 높다(Heo, Kim, Kang, & Moon, 2014). 뿐만 아니라 추출에 사용되는 용매의 양이 매우 적어 친환경적인 방법이라 할 수 있다. 허 등(2014)은 덜 유독한 80% 에탄올로 녹차박으로부터 lutein을 효율적으로 추출하였으며, Herrero 등(2013)은 가압추출법으로 기능성 성분의 회수율이 증가함을 보고하였다.
- 추출과 분석에 대한 위와 같은 다수의 연구에도 불구하고 아직까지도 카로티노이드를 체계적으로 분리분석, 동정하는 연구는 진행 중에 있다. 국제식품정책연구소(International Food Policy Research Institute)와 국제열대농작물센터(International Center for Tropical

Agriculture)에서는 분야별 전문가를 구성하여 “Harvest Plus Handbook for Carotenoid Analysis”(2004)라는 자료집을 발간하였는데 주요 내용은 식품 중 카로티노이드, 카로티노이드 분석을 위한 일반사항(시료처리, 추출, 분리, 검화, LC분석, 동정, 정량화), 카로티노이드 분석에 있어서 오차, 식품별 주요 카로티노이드 등으로 구성하였으며 분석법 검증 및 적용 사례를 작물별로 소개하고 있다.

- 위와 같이 표준분석법을 제시하는 이유는 카로티노이드를 추출, 분획, 분리 분석 시 과정이 복잡하고 여러 단계를 거치게 되므로 손실 및 오차가 발생할 가능성이 매우 높기 때문이다. 특히 신품종을 개발하고자 할 경우 분석과정에서의 오차 발생은 식품종의 가치 판단에 있어서 오류원인이 될 수 있으므로 표준화된 절차에 따라 정교한 추출, 분리, 분석 기술을 활용하는 것이 매우 중요하다.
- 과채류의 품질은 등급에 따라 가격이 형성되며, 이는 농가의 소득 증대 및 소비자의 구매도와 상관성이 매우 높아 고품질 과채류 생산에 따른 수확 시기 및 수확 후 관리의 지표설정은 매우 중요하다. 파프리카 수확시기의 결정은 파프리카 과형의 크기와 모양, 표면의 색상과 풍미에 좌우되며, 화학적 품질 특성과 함께 파프리카의 품질 등급화에 있어서도 관능적 지표가 결정적인 요소로 작용한다. 파프리카는 고추와 달리 과육이 두텁고 과즙성이 뛰어나 과일을 대체할 수 있는 채소류로 간주됨에도 불구하고, 고추과에서 비롯하는 특유의 풍미는 소비층 확대에 장애요인이지만, 이에 관한 관능적 속성의 용어 정립이 아직까지 이루어지지 않고 있으며, 따라서 객관적이고 관능적인 품질 지표설정이 필요하다.
- 본 연구에서는 일차적으로 UPLC를 활용하여 적색, 노란색, 주황색, 녹색 파프리카를 지역별로 수집하여 각각의 주요 파프리카를 빠르게 분석할 수 있는 조건을 설정하고, 이를 종합하여 파프리카 유래 카로티노이드들 동시 분석하는 조건을 확립하였다. 추출법 개선을 위해서는 ASE를 이용하여 적색파프리카 중 capsanthin을 추출하는 방법을 모색하였으며 이는 통계적 신뢰도를 향상시키고 추출 조건의 최적화를 위해 반응표면분석법(Response surface methodology, RSM)에 의해 추출조건을 설계함으로써 최적조건을 확립하였다. 각각의 조건에서 기능적 우수성을 검증하기 위해 항산화활성과 항당뇨 활성을 검증하였다.
- 관능적 품질 평가 지표 확립을 위해서는 훈련된 패널을 대상으로 묘사분석을 통해 외관(크기, 색상, 광택성), 조직감(경도, 과즙성), 맛(단맛, 매운맛, 신맛), 쓴맛(bitter taste), 풋고추향(green pepper aroma), 오이향(cucumber aroma)을 최종 파프리카 평가용 용어로 도출하였다.
- 관능평가도구를 활용하여 블로키 타입 파프리카 11품종(적색 4품종, 주황색 3품종, 노란색 4품종)과 코니컬 타입 파프리카 16품종(적색 6품종, 주황색 5품종, 노란색 5품종)의 특성을 평가하고 각 품종을 기기적 평가를 동시에 실시하여 비교하였다. 그 결과, 경도와 크기는 음의 상관관계를 가지는 것으로 나타나 단단할수록 크기는 작은 것으로 나타났으며, 쓴맛과 단맛은 음의 상관관계를 풋고추향과 쓴맛과는 양의 상관관계를 가지는 것으로 나타났다. 각 관능평가 지표와 전체 기호도와의 상관성 분석 시 크기, 과즙성, 단맛과 양의 상관관계를 나타내고, 매운맛, 쓴맛과는 음의 상관관계를 나타내 소비자들이 느끼는 파프리카의 기호도는 크기가 클수록, 과즙성이 많을수록 단맛이 높을수록, 매운맛과 쓴맛이 낮을수록 기호도가 증가

함을 보고하였으며, 수행된 관능평가 지표를 사용한다면 소비자의 전체적 기호도를 평가할 수 있을 뿐만 아니라 새로운 품종의 육종 시 부정적인 속성의 발현을 조절함으로써 소비자 선호도가 높은 품종 개발에 활용할 수 있음을 보고하였다.

- 본 연구의 수행결과는 저명한 저널에 발표함으로써 추출 및 분석기술의 우수성을 입증하였으며, 또한 개발단계에 있는 파프리카 품종의 카로티노이드 발현 특성을 비교 분석 연구를 수행함으로써 신품종 육성 개발의 기술 지원에 기여하였다. 또한, 확립한 추출 및 분석기술은 표준분석법(SOP)으로 정리함으로써 시료의 채취에서 타겟 성분의 분석에 이르는 일련의 과정을 체계적으로 수행할 수 있도록 하였으며 이는 타 작목에도 활용 할 수 있을 것으로 사료된다. 개발 중인 신품종 고추의 색소 분석에 시범적용 하였으며, 호박, 토마토, 옥수수 등 카로티노이드를 주요 색소원으로 하는 작물의 카로티노이드 분석에 활용할 수 있으며 표준화된 절차에 따라 분석할 경우 분석결과의 신뢰성을 높일 수 있을 것이다.
- 또한 국제경쟁력 강화와 국내소비시장의 확대를 통해 농가소득의 안정성을 확보하기 위해 가장 시급히 고려되는 기술은 신품종 육성 및 재배 기술, 그리고 육종기반기술의 확립에 있으며, 특히 육종기반기술의 확립에 있어 중요한 기술은 육종 세대 단축을 위한 소포자 배양 기술의 개발을 통한 육종연한 단축이 매우 중요하다.
- 반수체 육종법 중 하나인 소포자 배양은 약배양에 비해 배양노력 및 기술이 적게 필요한 장점을 가지고 있어 이미 국내에서는 배추과 채소 품종육성에 실용화된 기술이다. 그러나 국내 파프리카 소포자 배양기술에 대해서는 전처리 배지, 생장조절물질, 배지 진탕여부 등에 대한 단편적인 기술개발이 이루어져 있으나 소포자 배양이 실용화된 헝가리 등 해외국가보다는 연구가 미진한 상태이다.
- 소포자 배양은 배양하는 식물체의 품종, 배양조건(배지종류, 배양온도, 고온처리조건, 배양용기 등) 및 봉오리 크기 등 배양하는 식물체의 상태가 배양결과에 큰 영향을 끼치는 것으로 알려져 있음. 국내외에서 고추 및 sweet pepper 소포자배양에서 ELS 및 Calli 유기율은 비교적 높은 편이나 육종가능한 정상식물체로의 분화율은 매우 낮아(0.85%) 실용화에 어려움이 있다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절. 파프리카 유래 카로티노이드 표준분석법 확립

1. 시료 및 시약

- 파프리카에서 유래하는 카로티노이드의 표준분석법 확립 및 신제품 적용을 위해 1차년도 부터 품종별, 색상별 시료를 수집하였으며 시료 전처리는 세척, 비가식 부위 제거, 절단(팔 등분)한 다음 동결건조 후 분쇄하여 냉동보관(-70°C) 하였다. 분석용 용매인 methanol (MeOH), acetonitrile(ACN), methylene chloride (MC)는 J.T. Baker(Avantor Performance Materials, Inc., PA, USA)의 (U)HPLC grade를 사용하였으며, 추출용 용매인 acetone, diethylether, sodium chloride, sodium sulfate는 Junsei Chemical(Tokyo, Japan)에서 구입 하여 사용하였다. H₂O는 AquaMAX™-Ultra(YoungLin Instrument Co. Ltd., Seoul, Korea) 를 사용하여 18.2 mΩ 수준으로 정제된 증류수를 사용하였다.
- 파프리카 유래 카로티노이드의 정성, 정량 분석 조건 설정 및 검증을 위해 적색과 3종(바이 런, 시로코, 레드마운틴), 주황색과 1종(오렌지프로), 황색과 2종(불란테, 피에스타), 녹색과 2종(바이런, 레드마운틴)으로 총 8종의 파프리카를 시료로 하였으며, 분석법이 검증을 위해 농산무역(주)으로부터 적색, 주황색, 노랑색, 녹색 각각 1품종, 전북농업기술원으로부터 적색 4종, 주황색 3종, 노랑색 4종으로 총 11종, 경남농업기술원에서 적색 7종, 주황 6종, 노랑 6 종으로 총 19종으로 총 34종이 파프리카를 제공 또는 구입하여 사용하였고 이 시료는 관능 평가 설문도구개발에도 활용하였다.

표 2. 파프리카 색상 및 품종

입고처	색상	이름 및 품종	입고처	색상	이름 및 품종	
농산무역(주)	적색	시로코	경남농업 기술원	적색	20×23	
		주황			오렌지프로	52×23
		노랑			불란테	74×23
		녹색			레드마운틴	98×21
전북농업 기술원	적색	레드마운틴	주황	주황	RD-Glory	
		매그니피코			Acrobat	
		나가노			Acrobat(토경)	
	프릴루리움	48×49				
	주황	마쫘나			98×44	
		오렌지글로리			98×101	
		오렌지스타			OE-Glory	
	노랑	요리트			스벤	Oranos
					콜레티	Oranos(토경)
					아트란테	52×27
			92×27			
			98×25			
			YW-Glory			
			Xanthi			
			Xanthi(토경)			

○ 표준품은 neoxanthin, violaxanthin, capsorubin, capsanthin, lutein, zeaxanthin, α -cryptoxanthin, β -cryptoxanthin, lycopene, α -carotene, β -carotene은 Carotenature GmbH(Lupsingen, Switzerland)에서 구입하였으며, 내부 표준품으로 사용된 β -apo-8'-carotenal은 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. 분석용 용매인 methanol(MeOH), acetonitrile(ACN), methylene chloride(MC)는 J.T. Baker(Avantor Performance Materials, Inc., PA, USA)의 (U)HPLC grade를 사용하였으며, 추출용 용매인 acetone, diethylether, sodium chloride, sodium sulfate는 Junsei Chemical(Tokyo, Japan)에서 구입하여 사용하였다. H₂O는 AquaMAXTM-Ultra(YoungLin Instrument Co. Ltd., Seoul, Korea)를 사용하여 18.2 m Ω 수준으로 정제된 증류수를 사용하였다.

2. 유효성분의 추출 및 농축

○ 유리 상태의 파프리카 색소 조성을 연구하기 위해 색소에서 지방산을 분리하는 검화 반응을 실시하였다. 파프리카 시료는 가압용매추출장치(ASE, accelerated solvent extraction, ASE 150, Dionex, Sunnyvale, CA, USA)를 이용하여 추출하였다. 추출용 22mL cell에 cellulose filter(ASE-NON-Stick Thimbles for extraction, Whatman, Schleicher & Schuell, Bioscience, Dassel, Germany), ASE Prep Diatomaceous Earth(Dionex, Sunnyvale, CA, USA)를 차례로 넣고 압착한 후 여기에 균질화 된 각 시료를 각 1g씩 넣어 acetone으로 추출하였다. ASE를 이용한 추출 조건은 표 3과 같다.

표 3. 카로티노이드 추출을 위한 ASE 조건

Oven temperature	100 °C
Static time	5 min
Flush volume	60 % of cell volume
Purge time	60 s
Static cycles	3
Pressure	1500psi

○ 추출이 끝난 후 collection vial에 수집된 용매를 TurboVap LV (Biotage, Uppsala, Sweden)를 이용하여 25°C 수욕 상에서 N₂ 가스로 농축하여 3mL로 정용한 후 30% KOH/MeOH 1mL과 methanol 3mL을 혼합하여 빛을 차단한 채 2시간 30분 동안 검화 반응을 수행하였다. 반응액에 20mL의 증류수를 첨가하고 diethylether 20mL을 첨가하여 추출한 후 10% sodium chloride 10mL을 첨가하였다. 충분히 방치하여 층 분리를 시킨 후 상층액을 회수하였다. 하층액에 2% sodium sulfate를 첨가하여 잔존하는 diethylether를 회수하고 3회에 걸쳐 회수한 diethylether 분획을 혼합하였다. 20분 후 분리되는 하층을 제거하고 회수된 diethylether는 감압 농축한 후 남은 잔여물을 acetone 3mL에 녹여 MILLEX-HV 0.22 μ m PTEF syringe filter(Millipore Corp. Bedford. MA. USA)로 여과한 후 분석에 사용하였다.

3. 파프리카 추출물의 검화

○ 적색 파프리카 아세톤 추출액의 비검화와 검화 비교 평가를 위하여 각각의 색소 조성 분석을 위한 UPLC 조건은 다음 표 4와 같은 방법으로 수행하였으며, 그 결과 그림 3과 같이

적색 파프리카 아세톤 추출물을 검화한 것이 지방산 유리가 효과적으로 이루어진 것을 확인하였다.

표 4. 비검화 및 검화 카로티노이드 분석을 위한 UPLC 조건

Instrument	ACQUITY UPLC H-Class (Waters)
Solvent	(A) 15% water in methanol
	(B) 50% acetone in methanol
Gradient program	0min 100% A - 1min 100% A - 20min 0% A - 21min
	0% A - 24min 100% A - 25min 100% A
Flow rate	0.3 mL/min
UV wavelength	450 nm
Column	Acquity UPLC BEH C18 (2.1X50mm, 1.8um)
Oven temperature	35 °C
Injection volume	1.0µL

- 적색 파프리카 아세톤 추출물의 비검화와 검화를 비교한 결과 파프리카 추출물 비검화에서는 지방산 해리가 나타나지 않아 12분 이후에 여러 피크들이 나타나는 것을 확인할 수 있다. 30% KOH/MeOH를 넣고 2시간동안 검화 반응을 시킨 경우 지방산 해리가 나타나 적색 파프리카의 주요 색소성분인 캡산틴이 검출되는 시간인 3~4분대의 피크가 증가하는 것을 확인할 수 있었다.

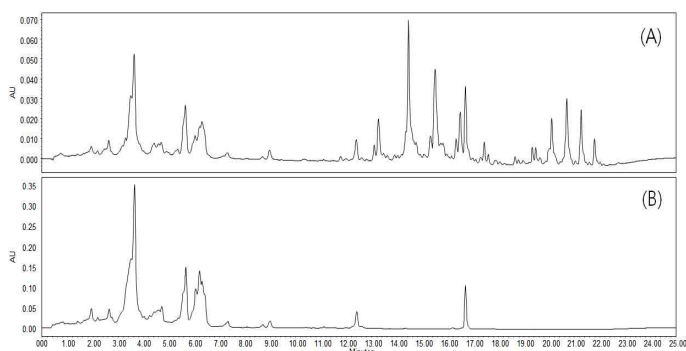


그림 3. 적색 파프리카 아세톤 추출물의 비검화 (A)와 검화 (B) 비교

- 적색 파프리카 추출용매 및 검화를 비교하기 위하여 동일한 ASE 방법(표 3)으로 추출하였으며, UPLC 분석조건은 컬럼을 변경하여 표 5와 같이 수행하였다. 그 결과 그림 4와 같이 아세톤 추출물이 아세톤과 헥산을 1:1로 혼합한 용매로 추출한 것 보다 검화 시 추출이 더 잘 되는 것을 확인하였다. 또한 UPLC 분석 시 HSS T3 컬럼이 BEH C18 컬럼보다 분리도는 더 좋으나 피크의 머무름 시간이 더 긴 것을 확인하였다.

표 5. 추출용매 및 검화 비교를 위한 UPLC 조건

Instrument	ACQUITY UPLC H-Class (Waters)
Solvent	(A) 15% water in methanol
	(B) 50% acetone in methanol
Gradient program	0min 100% A - 1min 100% A - 20min 0% A - 21min 0% A - 24min 100% A - 25min 100% A
Flow rate	0.3 mL/min
UV wavelength	450 nm
Column	Acquity UPLC HSS T3 (2.1X100mm, 1.8um)
Oven temperature	35 °C
Injection volume	1.0μL

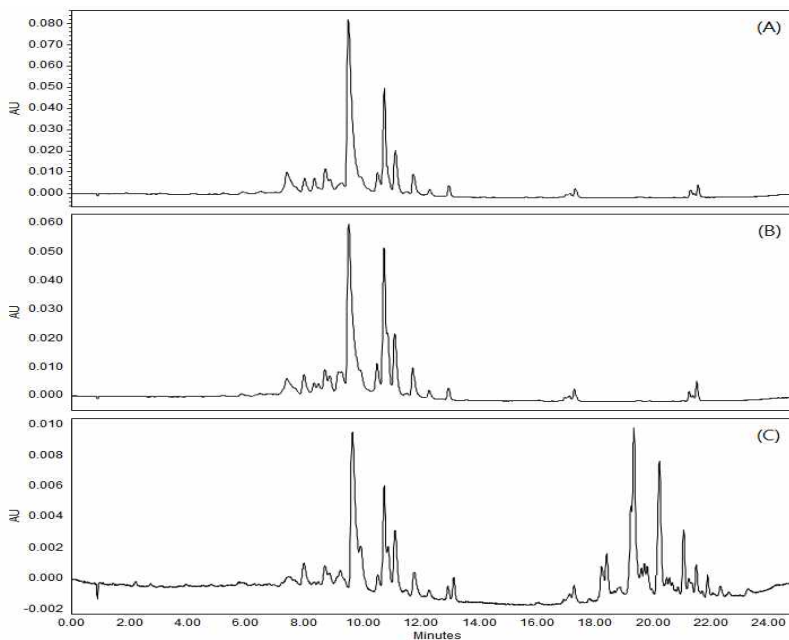


그림 4. 적색 파프리카 추출용매 및 검화 비교 아세톤 추출물 검화(A), 아세톤:헥산 (1:1, v/v) 추출물 검화, 아세톤 추출물 비검화(C)

4. 유효성분의 추출조건 설정 : 유효성분의 정성, 정량분석 조건 설정

- 적색 파프리카의 주요 카로티노이드인 캡산틴을 정성 및 정량분석을 위하여 분석시간이 짧은 BEH 컬럼을 이용하여 캡산틴 신속 분석법을 개발하였다. 추출방법은 최적 용매인 아세톤을 이용하였으며 최적 추출을 위한 ASE 방법은 표 3와 같은 방법으로 하여 30% KOH/MeOH를 이용하여 상기와 동일한 방법으로 검화 반응을 거친 후에 UPLC를 이용하여 정성 및 정량 분석을 수행하였다. 캡산틴 분석을 위한 UPLC 방법은 표 6와 같이 수행하였다. 실험 결과 그림 5와 같이 캡산틴의 피크 검출시간은 2.38분으로 신속 검출이 가능하였으며, 적색파프리카 검화 추출물에서 캡산틴의 피크 역시 좋은 분리도를 나타내는 것을 확인하였다.

표 6. 캡산틴 분석을 위한 UPLC 조건

Instrument	ACQUITY UPLC H-Class (Waters)
Solvent	(A)methanol (B)water = 85 : 15
Flow rate	0.5 mL/min
UV wavelength	470 nm
Column	Acquity UPLC BEH C18 (2.1×50mm, 1.8um)
Oven temperature	35 °C
Injection volume	1.0μL

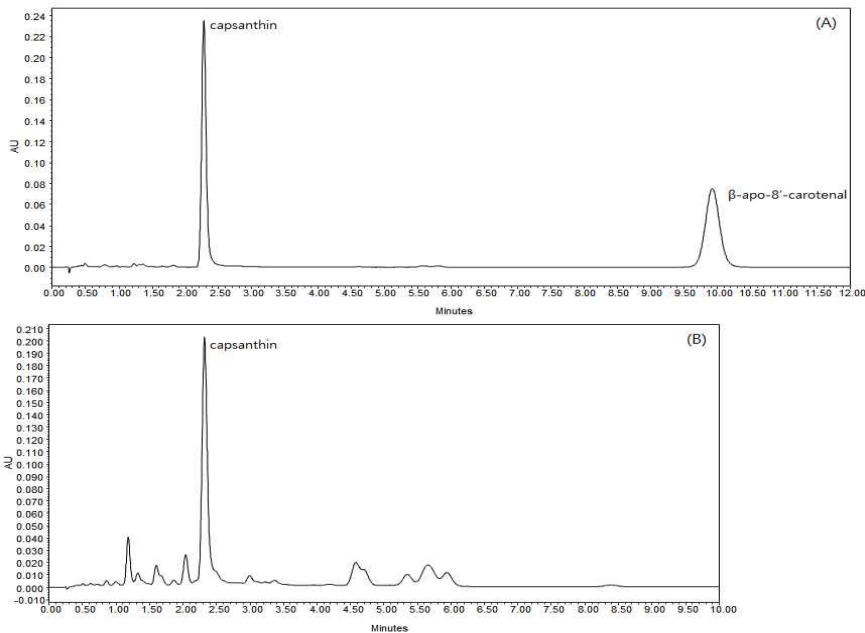


그림 5. 파프리카의 캡산틴 크로마토그램 표준품(A), 적색파프리카(B)

- 캡산틴의 신속 정량을 위한 분석법 검증을 위하여 캡산틴과 내부표준물질로 β -apo-8'-carotenal을 이용하였으며 DMSO를 blank로 하여 UPLC로 확인 후 두 물질 모두 DMSO를 이용하여 제조하였다. 캡산틴은 0.5~200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 범위 내에서 14가지 농도로 표준 용액을 만들었으며, 내부 표준물질은 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이 되게 첨가하여 검량선용 표준시료를 만들어 직선성, 일간 정밀도, 일내 정밀도를 UPLC로 분석하여 검출한계(LOD), 정량한계(LOQ), 정밀도, 정확도를 산출하여 검증을 수행하였다.
- 캡산틴의 검출한계, 정량한계, 직선성의 결과는 표 7과 같으며 캡산틴 검량선의 직선성을 위한 회귀식은 $y=11718x-11417$ 이며, 상관계수(r^2)는 0.9991로 표 6의 분석조건 하에서 높은 직선성을 나타내었으며, 직선성을 나타내는 범위 내에서 캡산틴의 검출한계 1.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 정량한계 3.7 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 수준을 나타내어 캡산틴을 분석할 수 있는 충분한 감도와 직선성을 가지고 있는 것을 확인하였다. 캡산틴의 일간 RSD는 2.86~9.01%, 일내 RSD는 5.15~8.07%

이었으며, 이에 해당하는 회수율은 91.88~104.23%로 나타나 개발된 분석방법이 캡산틴의 정량분석이 가능한 재현성을 가지고 있다는 것을 확인하였다.

표 7. 캡산틴의 검출한계, 정량한계, 직선성 결과

Capsanthin	
LOD ($\mu\text{g/mL}$)	1.2
LOQ ($\mu\text{g/mL}$)	3.7
Calibration equation ($y=Ax+B$)	
Slope (A)	11718
Intercept (B)	-11417
Correlation coefficient (r^2)	0.9991

표 8. 캡산틴 분석법의 일간, 일내 정확도, 정밀도, 회수율 결과

Analyte	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Intra day (n=5)		Inter day (n=5)	
		Recovery (%)	RSD(%)	Recovery (%)	RSD(%)
Capsanthin	10	99.23	8.07	104.23	9.01
	12.5	94.45	6.46	102.81	5.57
	25	93.17	5.43	98.93	5.77
	50	91.88	5.15	97.32	2.86
	75	93.49	5.15	98.00	4.51
	100	94.72	5.87	97.68	3.16

- 검증된 캡산틴의 신속 정량을 위한 분석법을 이용하여 적색파프리카 바이린 품종에서 캡산틴의 함량을 분석한 결과 (표 9) 건조중량 100g 당 26.08 ± 0.34 mg의 캡산틴이 함유되어 있는 것을 확인하였다.

표 9. 적색파프리카의 캡산틴 함량

Scientific name	Variety	capsanthin content (mg/100g of dry weight)
<i>Capsicum annuum L</i>	Byron	26.08 ± 0.34

- 검증된 캡산틴의 신속 정량 분석법을 이용하여 카로티노이드 중 크산토펜 5종(캡소루빈, 비올라잔틴, 캡산틴, 제아잔틴, 루테인)의 정성분석을 수행하기 위하여 DMSO를 blank로 하여 UPLC로 확인 후 표준품 5종을 DMSO로 제조하였다. 정성분석 결과(그림 6) 캡소루빈, 비올라잔틴, 캡산틴, 제아잔틴, 루테인이 분리되는 것을 확인하였으며, 녹색, 노랑, 주황, 적색 파프리카에서 분리된 카로티노이드의 정성분석을 수행한 결과 파프리카의 색상에 따라 녹색, 노랑색 파프리카에서 violaxanthin과 lutein, 주황색 파프리카에서 zeaxanthin과 lutein, 적색 파프리카에서 캡소루빈과 캡산틴이 주요 피크로 확인되었다.

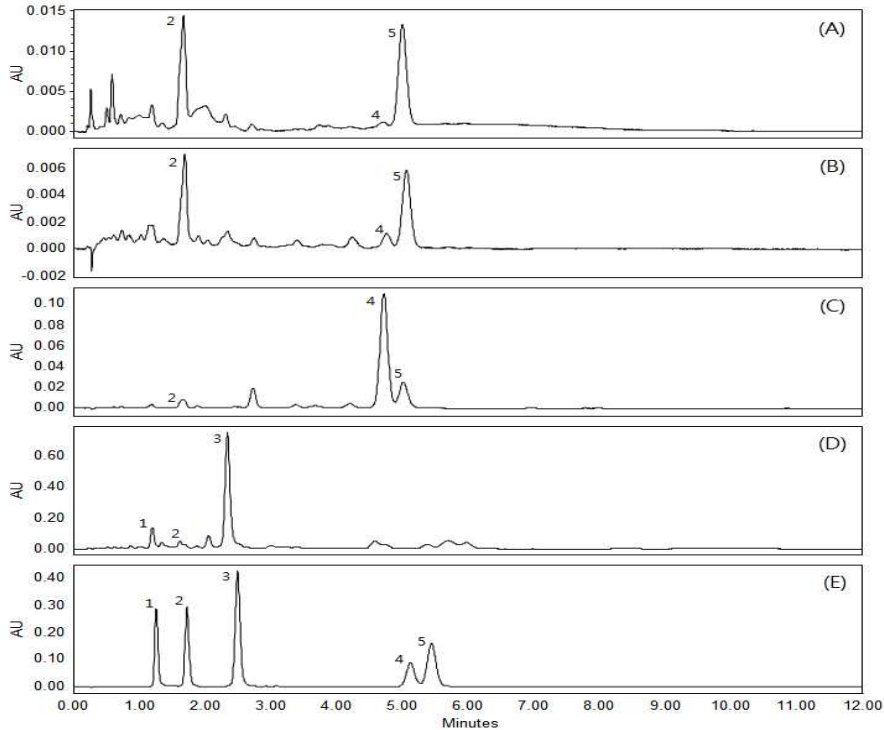


그림 6. 파프리카 색상별 카로티노이드 크로마토그램 녹색(A), 노랑(B), 주황(C), 적색(D), 표준품(E) 1, capsorubin; 2, violaxanthin; 3, capsanthin; 4, zeaxanthin; 5, lutein

5. 유효성분의 추출조건 최적화 : 반응표면분석법(Response surface material, RSM)을 이용한 캡산틴 최적 추출 조건 설정

- 적색파프리카의 주 카로티노이드인 캡산틴 추출을 위한 가압용매장치(ASE)의 최적 조건을 찾기 위해 반응표면분석법(Response surface materila, RSM)을 수행하였다. 반응표면분석법 중 최소 실험점으로 최적 조건을 선정할 수 있는 Box-Behnken법을 이용하였으며, 실험요인은 표 10와 같이 ASE 온도(X_1 , 60-100°C), ASE static time(X_2 , 3-5°C), 추출용매인 에탄올 대비 아세톤 농도(X_3 , 50-100%)이며, 이 세 가지 요인변수를 -1, 0, 1의 3단계로 부호화하였다.
- 표 11과 같이 15개의 추출조건을 이용하여 무작위로 순서를 정하여 3반복 실험하였으며, 이들 변수에 영향을 받는 종속변수(Y)로 캡산틴 함량을 UPLC를 이용하여 분석법 검증이 완료된 위의 캡산틴 신속 분석법으로 측정하여 건조 중량을 기준으로 하였다.

표 10. 적색파프리카에서 캡산틴 최적 추출법 선정을 위한 Box-behnken 방법

X _i	Extraction conditions	Levels		
		-1	0	1
X ₁	Temperature (°C)	60	80	100
X ₂	Static time (min)	3	4	5
X ₃	Acetone : Ethanol (v/v)	50 : 50	75 : 25	100 : 0

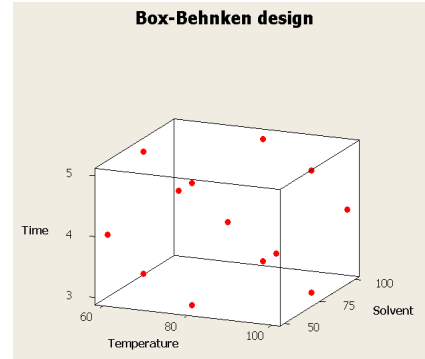


표 11. Box-Behnken 방법의 코드 단위 설계변수와 실험값

Order	Temperature(°C) X ₁	Time(min) X ₂	Acetone concentration(% X ₃	Capsanthin concentration(ug/100g d.w.) Y
1	60(-1)	3(-1)	75(0)	13.45±0.99
2	60(-1)	5(1)	75(0)	19.30±1.94
3	100(1)	3(-1)	75(0)	21.41±0.04
4	100(1)	5(1)	75(0)	21.69±0.42
5	60(-1)	4(0)	50(-1)	14.21±0.78
6	60(-1)	4(0)	100(1)	18.56±2.19
7	100(1)	4(0)	50(-1)	22.84±2.73
8	100(1)	4(0)	100(1)	19.45±0.84
9	80(0)	3(-1)	50(-1)	18.26±0.87
10	80(0)	3(-1)	100(1)	26.08±0.24
11	80(0)	5(1)	50(-1)	22.82±0.11
12	80(0)	5(1)	100(1)	20.85±0.92
13	80(0)	4(0)	75(0)	17.11±0.65
14	80(0)	4(0)	75(0)	19.05±1.84
15	80(0)	4(0)	75(0)	18.11±2.82

○ RSM 예측값은 Minitab 14(Minitab Inc. PA USA)을 이용하여 독립변수 X와 종속변수 Y에 대하여 다음과 같은 예측 방정식을 얻을 수 있었다.

$$Y = 32.58 + 7.30X_1 + 2.00X_2 + 2.50X_3 - 2.36X_1^2 + 4.10X_2^2 + 3.71X_3^2 - 2.89X_1X_2 - 4.02X_1X_3 - 5.09X_2X_3$$

○ 적색 파프리카의 캡산틴 추출을 반응표면 분석한 예측 방정식에 대한 회귀와 잔차의 analysis of variance (ANOVA) 분석한 결과 R²의 값이 80% 이상으로 유의성(p<0.001)이 인정되었고(표 12), lack of fit이 p>0.05로 비적합성이 기각되므로(표 13) 반응표면모델식은 적색파프리카에서 캡산틴 추출의 변화를 설명하는데 적합하였다.

표 12. 반응표면분석 결과의 회귀와 잔차에 대한 ANOVA 분석결과

Regression	DF	Sum of square	R ²	F value
Linear	3	140.04	58.87	21.21***
Quadratic	3	176.60	34.26	12.34***
Cross product	3	102.78	46.68	16.82***
Total model	9	419.42	82.20	16.79***

*** Significant at $p < 0.001$

표 13. 예측된 2차 반응표면식의 적합성 평가

	DF	Sum of square	Mean R ²	F value
Residual error	33	91.58	2.78	-
Lack of fit	27	66.48	2.46	0.84
Pure error	6	25.10	4.18	-
Correlation total	44	515.30	-	-

- 회귀에 대한 ANOVA 분석에서 선형적, 이차적 영향이 유의적으로 나타나고 상호적 영향도 있는 것으로 나타났다(표 14). 독립변수의 이차적 영향은 적용된 조작변수들, 추출시간과 온도, 용매의 농도 모두 종속 변수에 대해 양과 음의 상관관계 모두 보일 수 있음을 의미하며, 각 조작 변수들이 차지하는 영향을 표 14 모델을 통해 알 수 있었는데, static time($X_2 \times X_2$)계수는 유의성을 나타내지 않았다.

표 14. 예측된 2차방정식의 회귀계수

Parameter	coefficient
Linear	18.09***
X ₁	2.48***
X ₂	0.68 ^{NS}
X ₃	0.85*
X ₁ ×X ₁	-1.18*
X ₂ ×X ₂	2.05***
X ₃ ×X ₃	1.86**
X ₁ ×X ₂	-1.39**
X ₁ ×X ₃	-1.93***
X ₂ ×X ₃	-2.45***

^{NS} Not Significant

* Significant at $p < 0.05$

** Significant at $p < 0.01$

*** Significant at $p < 0.001$

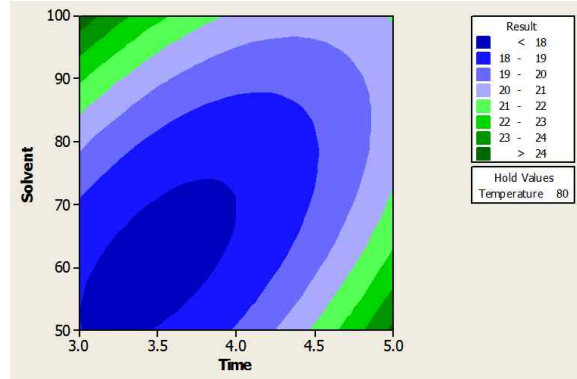
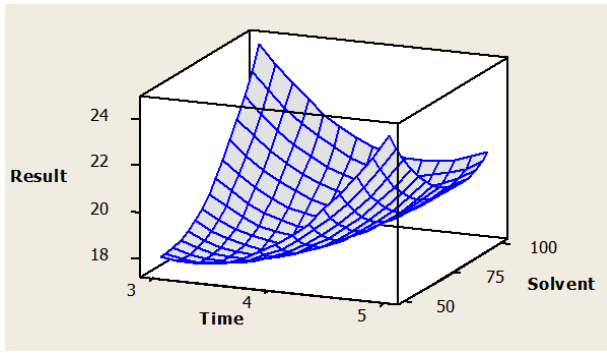


그림 6. ASE static time과 추출용매에 따른 캡산틴 함량 변화

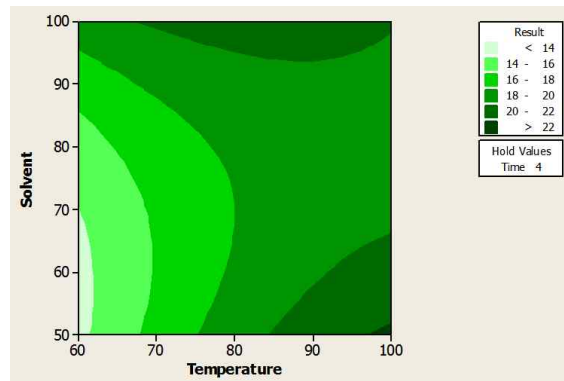
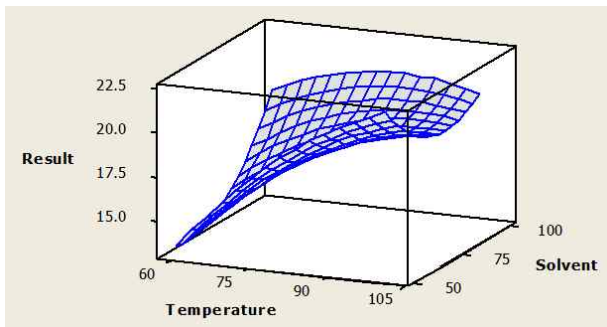


그림 7. ASE 추출온도와 추출용매에 따른 캡산틴 함량 변화

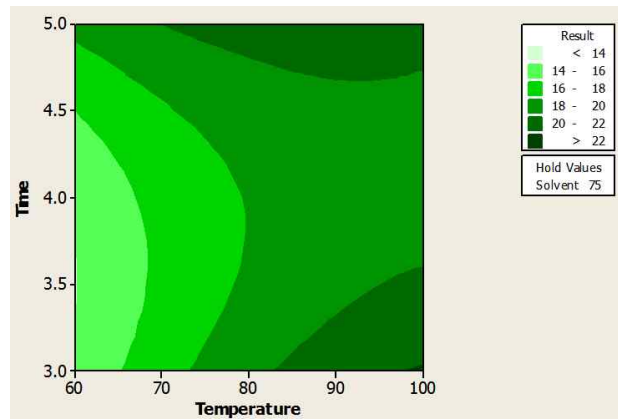
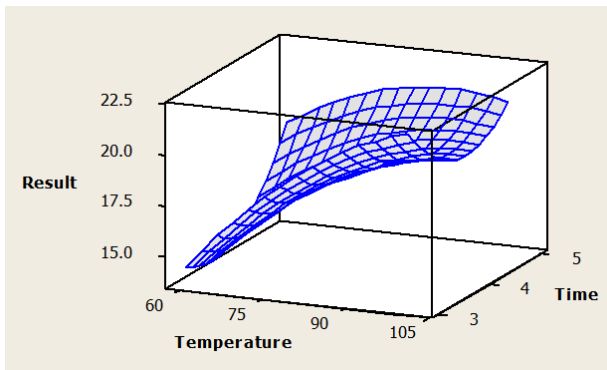


그림 7. ASE 추출온도와 static time에 따른 캡산틴 함량 변화

- RSM 분석을 통해 찾아낸 적색 파프리카로부터 캡산틴의 최적추출조건은 그림 8과 같다. 적색 파프리카에서 최적의 ASE 추출을 위해서는 ASE 추출온도(X_1)는 100°C , ASE static time(X_2)은 5분, 추출용매는 아세톤과 에탄올 5:5 (v/v)으로 나타났다. 이때 예측되는 캡산틴의 추출량은 $26.1236\mu\text{g/g d.w.}$ 으로 확인되었다.

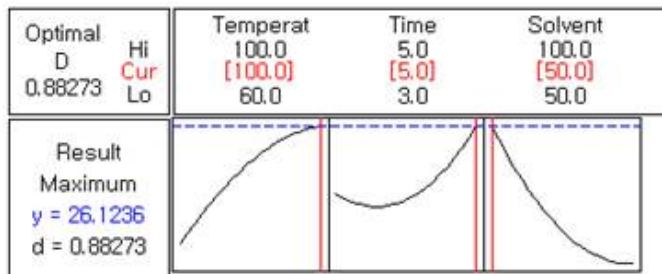


그림 8. 적색파프리카에서 캡산틴 추출을 위한 ASE 최적 조건 예측값

5. 유효성분의 UPLC를 이용한 동시분석조건 설정

- 크산토피 5종(캡소루빈, 비올라잔틴, 캡산틴, 제아잔틴, 루테인)과 카로틴 2종(베타-크립토산틴, 베타-카로틴)의 정성 분석을 위하여 캡산틴 신속 정량 분석법을 변형하여 표 15와 같이 UPLC의 용매를 메탄올과 물을 이용하여 다양한 구배용매조성법으로 카로티노이드 7종의 정성 시험법 비교를 수행하였다. 크산토피 표준품은 모두 DMSO를 blank로 UPLC에서 확인 후 크산토피 5종을 DMSO로 제조하였으며, 카로틴 표준품은 용해도 문제로 메틸렌클로라이드를 blank로 UPLC에서 확인 후 카로틴 2종을 메틸렌클로라이드로 제조하였다.

표 15. 카로티노이드 7종 분석을 위한 UPLC 조건 비교

Instrument	ACQUITY UPLC H-Class (Waters)
Solvent	(A)methanol (B)water
Gradient system 1	0min 85% A - 7min 85% A - 8min 95% A - 17min 95% A - 18min 85% A - 20min 85% A
Gradient system 2	0min 85% A - 7min 85% A - 12min 100% A - 17min 85% A - 20min 85% A
Gradient system 3	0min 85% A - 7min 85% A - 8min 100% A - 13min 100% A - 14min 85% A - 20min 85% A
Flow rate	0.5 mL/min
UV wavelength	470 nm
Column	Acquity UPLC BEH C18 (2.1×50mm, 1.8µm)
Oven temperature	35 °C
Injection volume	1.0µL

- 수행 결과 그림 9와 같으며, 캡소루빈, 비올라잔틴, 캡산틴, 베타 크립토산틴이 모두 잘 분리되었으나 용매조성이 메탄올 비율이 0분부터 7분까지 85%, 13분까지 100%으로 증가하여 13분까지 100%, 다시 14분에 85%로 감소하여 20분까지 85%인 구배용매조성법 3이 제아잔틴과 루테인의 분리도가 다른 구배용매조성법보다 양호하였으며, 카로티노이드 7종 모두 검출되는 조건으로 확인되었다.

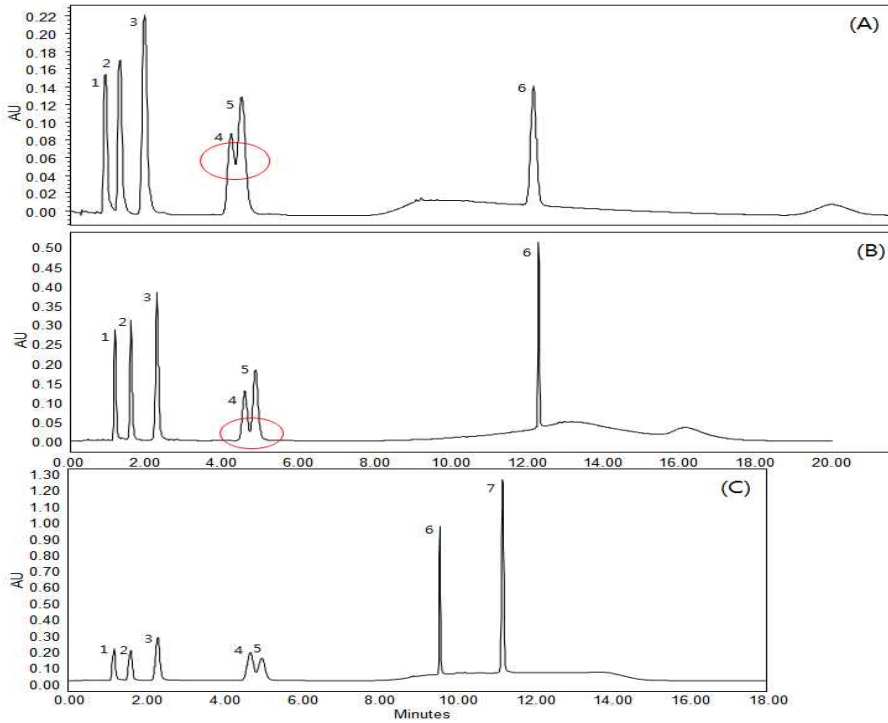


그림 9. 분석용매 조건별 표준품 분리도 비교 크로마토그램 gradient system 1(A), gradient system 2(B), gradient system 3(C) 1, capsorubin; 2, violaxanthin; 3, capsanthin; 4, zeaxanthin; 5, lutein; 6, β -cryptoxanthin; 7, β -carotene

- 카로티노이드 7종이 분리되는 조건인 표 15의 구배용매조건 3을 이용하여 녹색, 노랑, 주황, 적색 파프리카에서 분리된 카로티노이드의 정성분석을 수행한 결과(그림 10) 파프리카의 색상에 따라 녹색, 노랑색 파프리카에서 루테인, 주황색 파프리카에서 제아잔틴, 적색 파프리카에서 캡산틴이 주요 피크로 확인되었다. 캡산틴 신속 검출방법(표 6)에서 카로티노이드 5종을 정성 분석하는 것보다 표 15의 구배용매조건 3을 이용하여 카로티노이드 7종을 정성 분석하는 것이 분리도가 양호한 것으로 확인되었다.

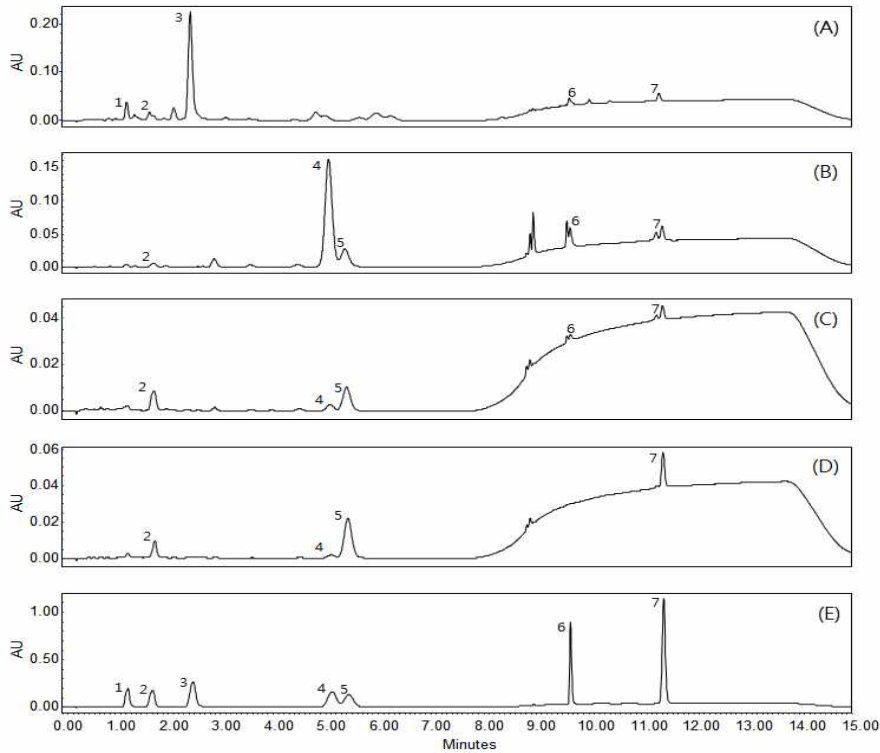


그림 10. 적색 파프리카의 카로티노이드 분리 크로마토그램 적색(A), 주황(B), 노랑(C), 녹색(D), 표준품(E) 1, capsorubin; 2, violaxanthin; 3, capsanthin; 4, zeaxanthin; 5, lutein; 6, β -cryptoxanthin; 7, β -carotene

- 카로티노이드 11종 동시분석 조건을 확립하기 위하여 BEH C18 컬럼보다 분리도가 좋았던 HSS T3 컬럼을 이용하여 표 16와 같이 UPLC 용매를 아세토니트릴, 메탄올, 메틸렌클로라이드 혼합용액과 물을 이용한 구배용매조성법으로 수행하였다. 네오잔틴, 캡소루빈, 비올라잔틴, 캡산틴, 제아잔틴, 루테인, 알파 크립토산틴, 베타 크립토산틴, 리코펜, 알파 카로틴, 베타 카로틴이 동시분석을 위한 카로티노이드 표준품 11종으로 이용되었다. 이 중 알파 크립토산틴, 베타 크립토산틴, 리코펜, 알파 카로틴, 베타 카로틴 표준품은 용해도 문제로 11종 모두 메틸렌클로라이드를 blank로 UPLC로 확인 후 표준품의 용매로 이용한 결과 크산토펴 표준품 6종(네오잔틴, 캡소루빈, 비올라잔틴, 캡산틴, 제아잔틴, 루테인) 모두 피크 쪼개짐 현상이 발생하였으므로(그림 11-A), 네오잔틴, 캡소루빈, 비올라잔틴, 캡산틴, 제아잔틴, 루테인 표준품은 DMSO, 알파 크립토산틴, 베타 크립토산틴, 리코펜, 알파 카로틴, 베타 카로틴 표준품은 메틸렌클로라이드를 이용하여 동시분석 조건을 확립하였다(그림 11-B). 분석 결과 표준품 11종의 검출시간은 네오잔틴 4.23분, 캡소루빈 5.23분, 비올라잔틴 6.63분, 캡산틴 9.52분, 제아잔틴 14.99분, 루테인 16.23분, 알파 크립토산틴 28.47분, 베타 크립토산틴 28.65분, 리코펜 30.95분, 알파 카로틴 34.06분, 베타 카로틴 34.67분으로 확인되었다.

표 16. 카로티노이드 11종 분석을 위한 UPLC 조건

Instrument	ACQUITY UPLC H-Class (Waters)
Solvent	(A)Acetonitrile/Methanol/Methylene Chloride (65/25/10, v/v/v) (B)D.W.
Gradient system	0min 70% A - 8min 70% A - 8.5min 75% A - 14min 75% A - 14.5min 70% A - 24min 70% A - 24.5min 100% A- 42min 100% A - 42.5min 70% A - 46min 70% A
Flow rate	0.4 mL/min
UV wavelength	450 nm
Column	Acquity UPLC HSS T3 (2.1×100mm, 1.8um)
Oven temperature	35 °C
Injection volume	1.0μL

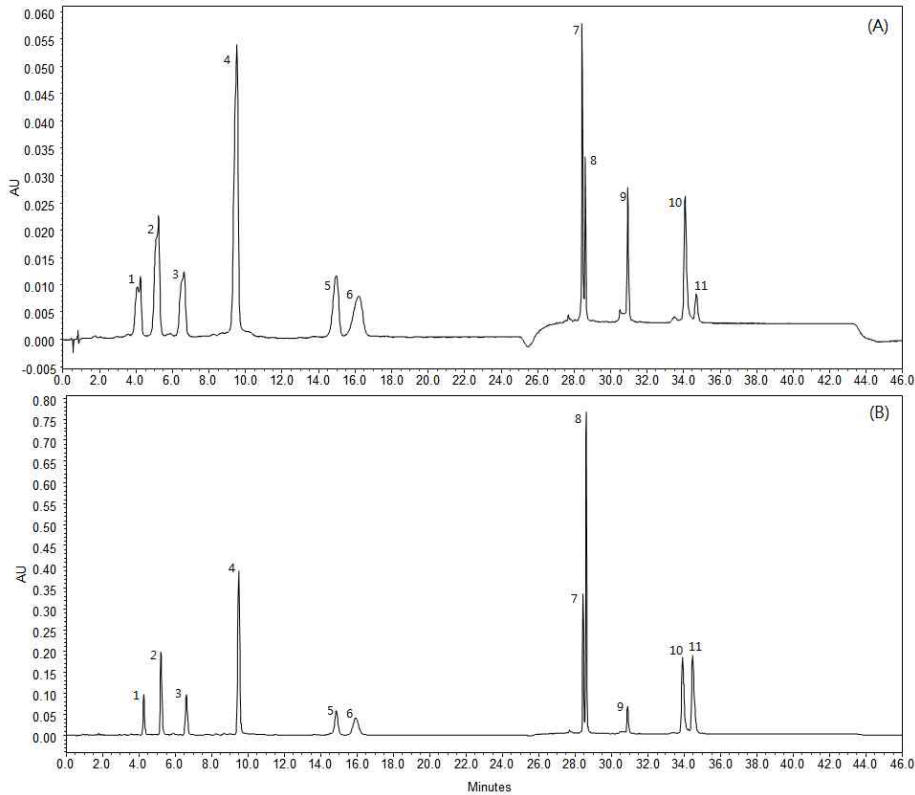


그림 11. 카로티노이드 표준품 11종 크로마토그램 methylene chloride(A), DMSO and methylene chloride(B) 1, neoxanthin; 2, capsorubin; 3, violaxanthin; 4, capsanthin; 5, zeaxanthin; 6, lutein; 7, α-cryptoxanthin; 8, β-cryptoxanthin; 9, lycopene; 10, α-carotene; 11, β-carotene

- 카로티노이드 11종 동시분석 조건(표 16)의 총 분석 시간을 줄이고자 구배용배조건과 유속을 표 17과 같이 변형하여 색상별 품종별 파프리카의 카로티노이드 함량을 정성·정량 분석한 결과 카로티노이드 11종 동시분석에 사용되는 총 분석시간은 46분에서 30분으로 16분 단축하였으며, 색상별 품종별 파프리카의 주요 카로티노이드는 적색 파프리카 바이런, 레드 마운틴, 시로크 품종 모두 캡산틴이 각각 건조중량 100g 당 11.26, 11.87, 12.35 mg으로 확

인되었으며, 주황 파프리카 오렌지프로 품종은 제아잔틴이 건조중량 100g 당 24.53 mg으로 확인되었다. 노랑 파프리카 피에스타, 볼란테 품종은 루테인이 각각 건조중량 100g 당 1.68 mg 1.87 mg, 녹색 파프리카 바이런, 레드마운틴 품종은 루테인이 건조중량 100g 당 3.23 mg, 3.45 mg 함유하고 있어 노랑, 녹색 파프리카는 루테인이 주요 카로티노이드로 확인되었다.

표 17. 카로티노이드 11종 분석을 위한 UPLC 조건

Instrument	ACQUITY UPLC H-Class (Waters)
Solvent	(A)Acetonitrile/Methanol/Methylene Chloride (65/25/10, v/v/v) (B)D.W
Gradient system	0min 70% A - 6.5min 70% A - 7min 75% A - 11min 75% A - 11.5min 70% A - 17min 70% A - 17.5min 100% A - 27.5min 100% A - 28min 70% A - 30min 70% A
Flow rate	0.5 mL/min
UV wavelength	450 nm
Column	Acquity UPLC HSS T3 (2.1×50mm, 1.8um)
Oven temperature	35 °C
Injection volume	1.0μL

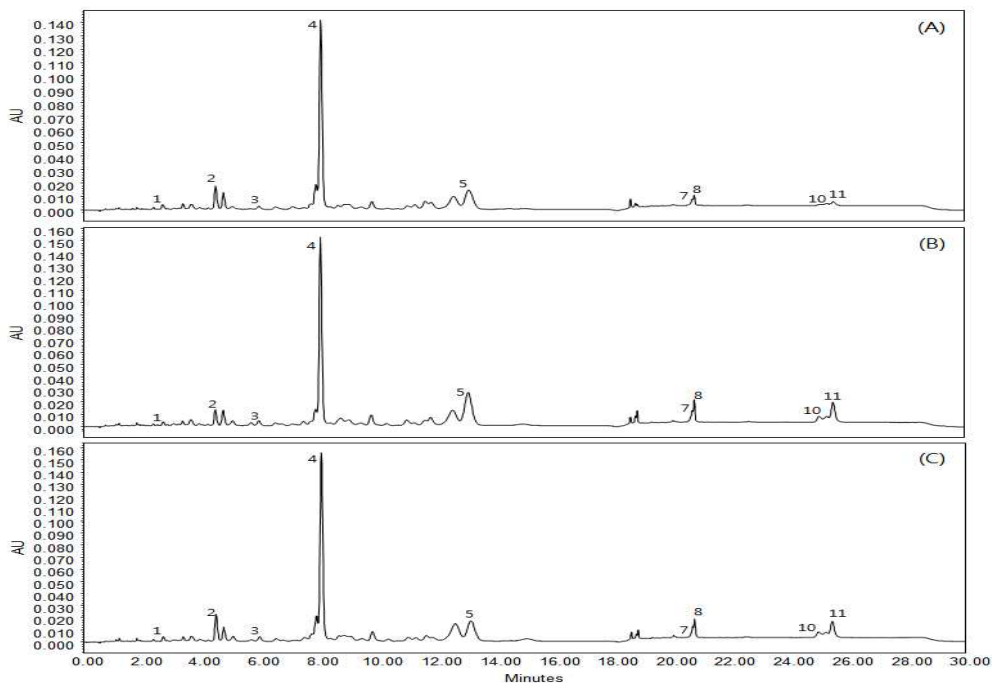


그림 12. 적색파프리카의 카로티노이드 분석 크로마토그램 바이런(A), 레드마운틴(B), 시로크(C) 1, neoxanthin; 2, capsorubin; 3, violaxanthin; 4, capsanthin; 5, zeaxanthin; 6, lutein; 7, α-cryptoxanthin; 8, β-cryptoxanthin; 9, lycopene; 10, α-carotene; 11, β-carotene

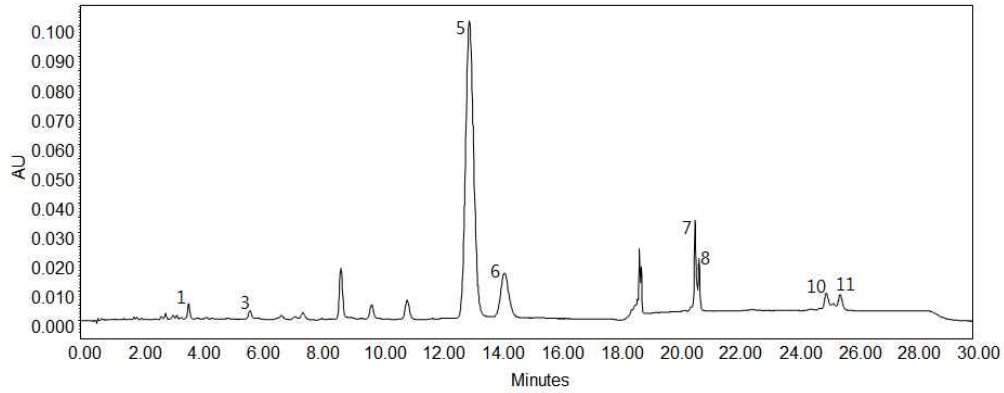


그림 13. 주황과프리카의 카로티노이드 분석 크로마토그램 오렌지프로 1, neoxanthin; 2, capsorubin; 3, violaxanthin; 4, capsanthin; 5, zeaxanthin; 6, lutein; 7, α -cryptoxanthin; 8, β -cryptoxanthin; 9, lycopene; 10, α -carotene; 11, β -carotene

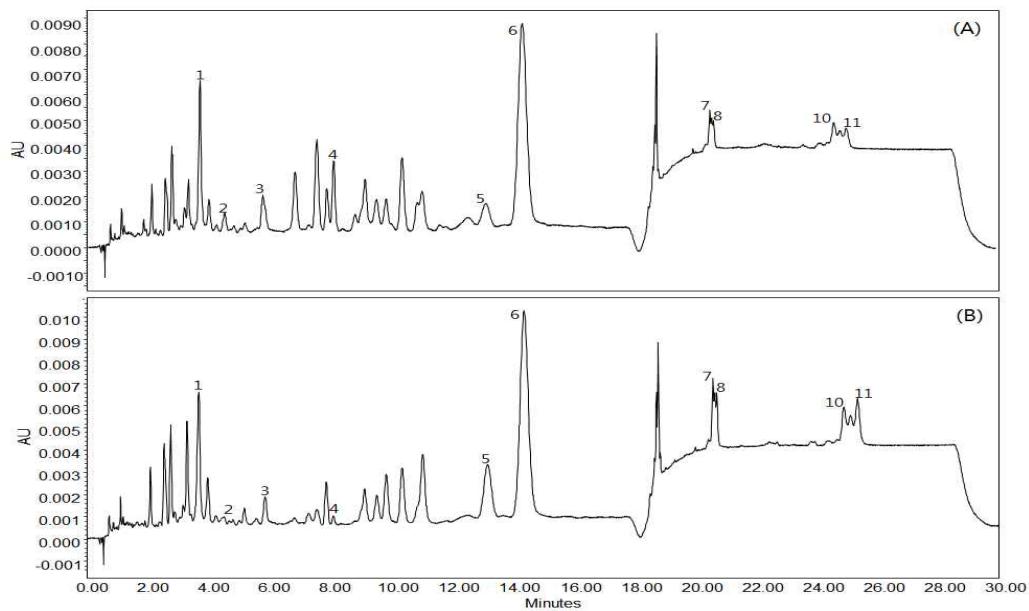


그림 14. 노랑과프리카의 카로티노이드 분석 크로마토그램 피에스타(A), 볼란테(B) 1, neoxanthin; 2, capsorubin; 3, violaxanthin; 4, capsanthin; 5, zeaxanthin; 6, lutein; 7, α -cryptoxanthin; 8, β -cryptoxanthin; 9, lycopene; 10, α -carotene; 11, β -carotene

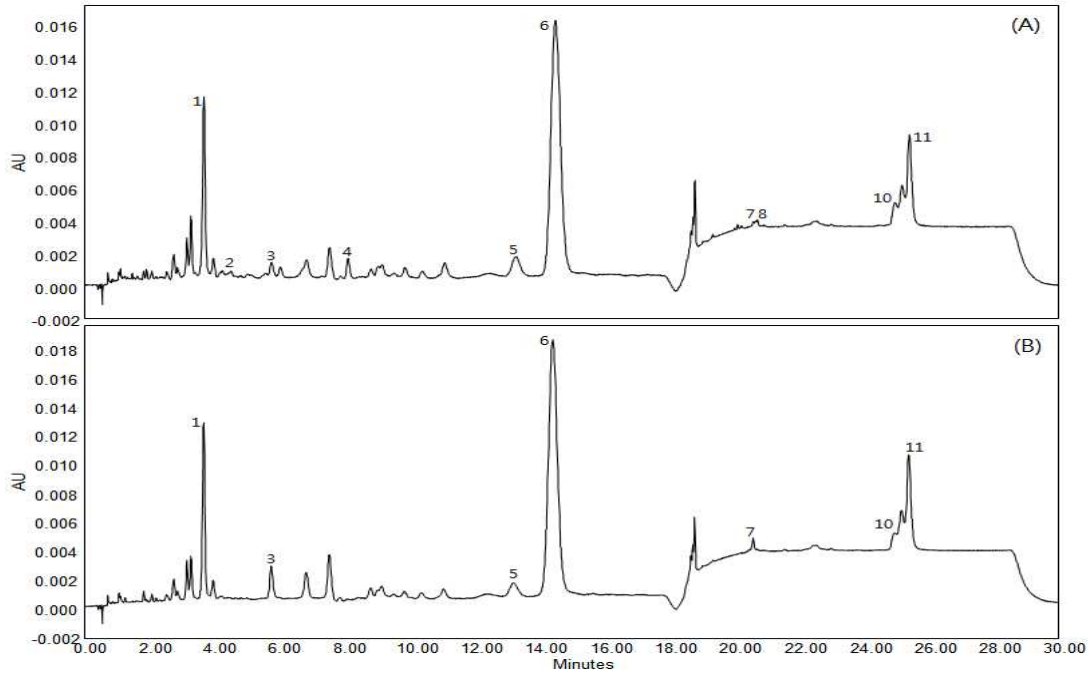


그림 15. 녹색과프리카의 카로티노이드 분석 크로마토그램 바이런(A), 레드마운틴(B) 1, neoxanthin; 2, capsorubin; 3, violaxanthin; 4, capsanthin; 5, zeaxanthin; 6, lutein; 7, α -cryptoxanthin; 8, β -cryptoxanthin; 9, lycopene; 10, α -carotene; 11, β -carotene

표 18. 색상별 파프리카의 카로티노이드 함량

(mg/100g of dry weight)

색상	품종	Neoxanthin	Capsorubin	Violaxanthin	Capsanthin	Zeaxanthin	Lutein	α-Cryptoxanthin	β-Cryptoxanthin	α-Carotene	β-Carotene	Total carotenoids
적색	바이런	0.59±0.04 ¹⁾	2.15±0.03	0.27±0.08	17.23±0.57	3.87±0.26	-	0.06±0.01	-	-	0.09±0.01	24.24±0.88
	레드 마운틴	0.73±0.04	1.31±0.04	0.34±0.01	14.70±0.13	5.43±0.04	-	0.15±0.01	-	0.05±0.01	0.29±0.02	22.98±0.02
	시로크	0.60±0.03	2.37±0.15	0.17±0.01	18.46±0.01	3.85±0.08	-	0.12±0.01	-	0.03±0.01	0.21±0.02	25.79±0.14
주황	오렌지 프로	0.63±0.09	0.14±0.01	0.35±0.04	-	31.37±2.81	5.38±1.38	0.22±0.06	-	0.11±0.05	0.14±0.04	38.31±1.21
노랑	피에스타	0.14±0.01	0.05±0.01	0.48±0.07	0.53±0.01	2.23±0.04	-	-	-	-	0.05±0.00	3.48±0.09
	볼란테	0.08±0.01	0.03±0.00	0.23±0.05	0.43±0.04	0.81±0.42	-	-	-	-	0.05±0.01	1.62±0.54
녹색	바이런	0.09±0.01	-	0.49±0.11	-	4.40±1.69	-	-	-	-	0.06±0.03	5.03±1.84
	레드 마운틴	0.09±0.01	-	0.68±0.04	-	3.87±0.60	-	-	-	-	0.11±0.02	4.74±0.67

¹⁾All results are expressed as mean±SD for three replicates.

6. UPLC를 이용한 카로티노이드 표준품 12종 동시분석법 설정 및 적용

- 카로티노이드 11종 동시분석 조건에서 antheraxanthin을 분리 분석하기 위해 재설정된 UPLC 분석조건은 표 19와 같다. 카로티노이드 12종 동시분석 조건의 크로마토그램은 그림 15과 같으며 분리된 카로티노이드 표준품 12종의 머무름 시간은 neoxanthin 3.941분, capsorubin 4.843분, violaxanthin 6.168분, capsanthin 8.518분, antheraxanthin 9.265분, zeaxanthin 14.395분, lutein 15.675분, α -cryptoxanthin 20.563분, β -cryptoxanthin 20.690분, lycopene 22.346분, α -carotene 24.610분, β -carotene 25.026분으로 나타났다.

표 19. 카로티노이드 12종 분석을 위한 UPLC 조건

Instrument	ACQUITY UPLC H-Class (Waters)
Solvent	(A)Acetonitrile/Methanol/Methylene Chloride (65/25/10, v/v/v) (B)D.W
Gradient system	0min 70% A - 6.5min 70% A - 7min 75% A - 11min 75% A - 11.5min 70% A - 17min 70% A - 17.5min 100% A - 27.5min 100% A - 28min 70% A - 30min 70% A
Flow rate	0.5 mL/min
UV wavelength	450 nm
Column	Acquity UPLC HSS T3 (2.1×50mm, 1.8 μ m)
Oven temperature	35 °C
Injection volume	1.0 μ L

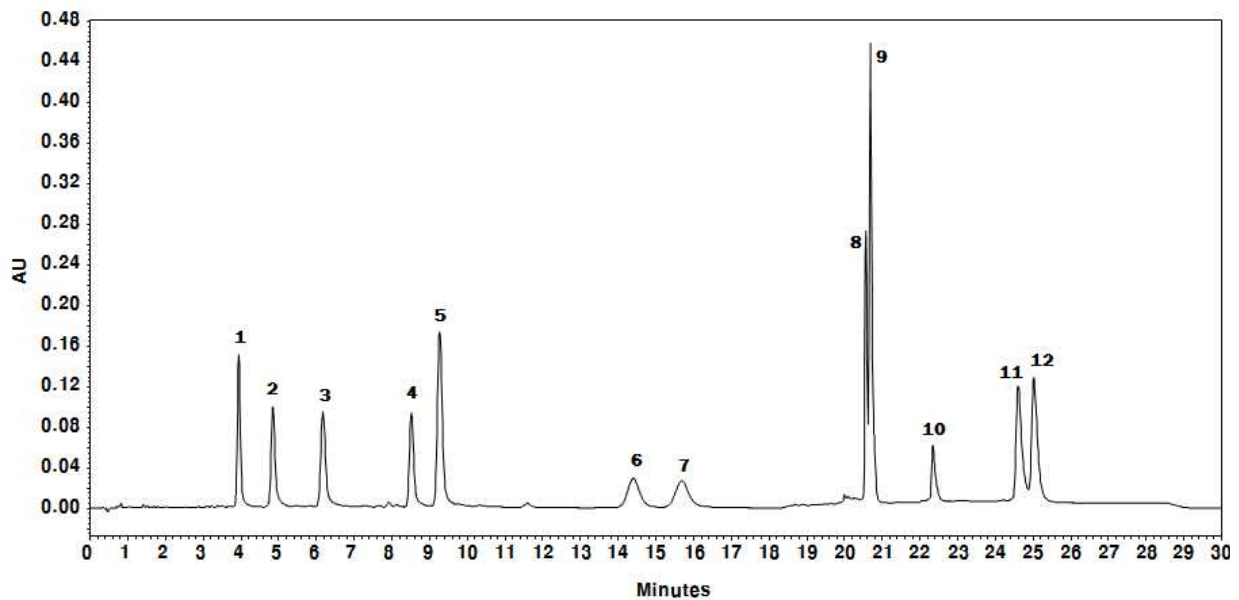


그림 16. 카로티노이드 표준품 12종 크로마토그램 1, neoxanthin; 2, capsorubin; 3, violaxanthin; 4, capsanthin; 5, antheraxanthin; 6, zeaxanthin; 7, lutein; 8, α -cryptoxanthin; 9, β -cryptoxanthin; 10, lycopene; 11, α -carotene; 12, β -carotene

- UPLC를 이용한 카로티노이드 12종 동시분석법을 적용하여 (주) 농산무역, 전북농업기술원, 경남농업기술원에서 수집된 색상별 품종별 파프리카의 카로티노이드 함량을 분석하였다. (주)

농산무역에서 제공받은 시료의 카로티노이드 분석 결과는 표 20와 같다. 적색 파프리카 시료코 품종의 주 카로티노이드는 캡산틴으로 20.52 ± 0.46 mg/100g d.w.가 함유되어 있었으며, 주황색 파프리카 오렌지프로 품종의 주 카로티노이드는 제아잔틴으로 165.79 ± 38.54 mg/100g d.w.가 함유되어 있었다. 또한, 노랑색 파프리카 볼란테 품종과 녹색 파프리카 레드마운틴 품종의 주 카로티노이드는 루테인으로 각각 9.46 ± 1.94 와 14.43 ± 4.34 mg/100g d.w.씩 함유되어 있었다. 총 카로티노이드 함량은 주황색 파프리카 오렌지프로 품종이 198.99 ± 0.99 mg/100g d.w.로 가장 높았으며, 그 이유는 제아잔틴 함량에 기인하는 것으로 사료된다.

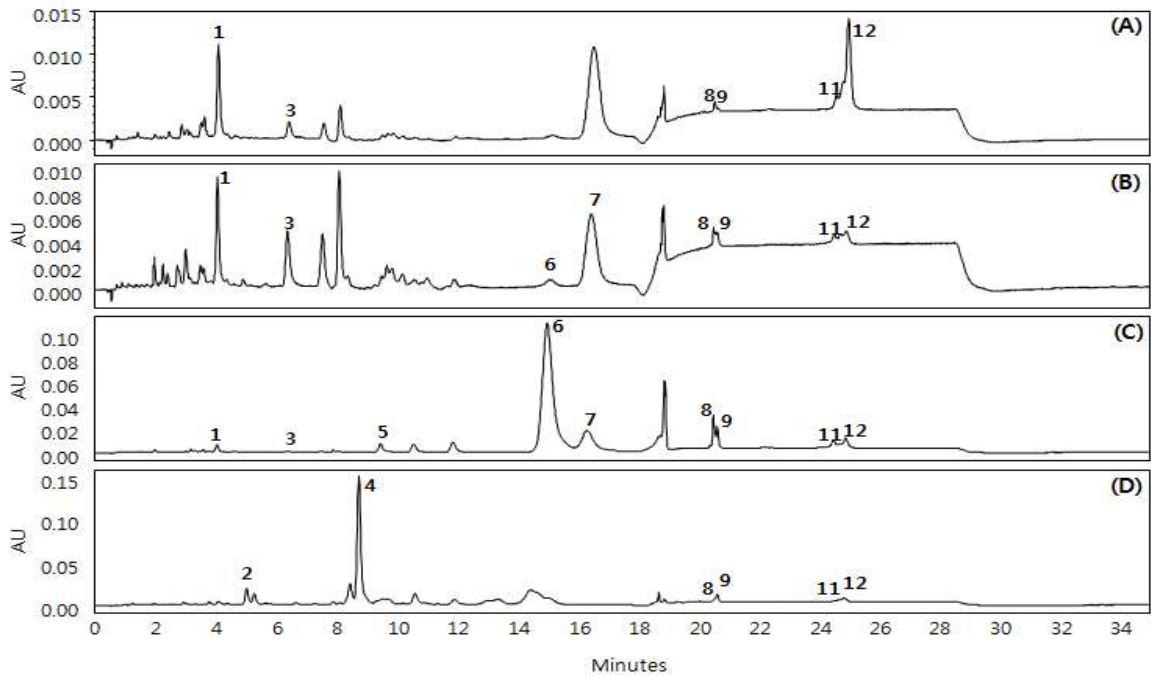


그림 17. 색상별 파프리카의 카로티노이드 크로마토그램 (농산무역) 적색 시료코(A), 주황 오렌지프로(B), 노랑 볼란테(C), 녹색 레드마운틴(D) 1, neoxanthin; 2, capsorubin; 3, violaxanthin; 4, capsanthin; 5, antheraxanthin; 6, zeaxanthin; 7, lutein; 8, α -cryptoxanthin; 9, β -cryptoxanthin; 10, lycopene; 11, α -carotene; 12, β -carotene

표 20. 색상별 파프리카의 카로티노이드 함량 (농산무역)

(mg/100g of dry weight)

색상	품종	Neoxanthin	Capsorubin	Violaxanthin	Capsanthin	Antheraxanthin	Zeaxanthin	Lutein	α -Cryptoxanthin	β -Cryptoxanthin	α -Carotene	β -Carotene	Total carotenoids
적색	시로코	-	2.46±0.09	-	20.52±0.46	-	-	-	0.04±0.00	0.07±0.01	-	0.22±0.06	23.30±0.61
주황	오렌지 프로	0.99±0.18	-	0.52±0.27	-	5.81±2.72	165.79±38.54	19.06±0.76	0.74±0.04	0.35±0.01	0.32±0.01	0.39±0.01	193.99±40.99
노랑	볼란테	1.27±0.19	-	1.26±0.28	-	-	0.61±0.14	9.46±1.94	0.04±0.01	0.02±0.00	0.04±0.01	0.07±0.01	12.76±2.61
녹색	레드 마운틴	1.23±0.70	-	0.47±0.07	-	-	0.31±0.08	14.43±4.34	0.02±0.01	0.01±0.00	0.07±0.02	0.55±0.15	17.10±5.36

¹⁾All results are expressed as mean±SD for three replicates.

○ 전북농업기술원에서 제공받은 시료의 카로티노이드 분석 결과는 표 21과 같다. 적색 파프리카의 주요 색소 성분인 캡산틴은 레드마운틴 품종이 31.80 ± 5.25 mg/100g d.w.로 가장 그 함량이 높았으며, 총 카로티노이드 함량 역시 43.32 ± 7.95 mg/100g d.w.로 가장 높았다. 주황색 파프리카의 주요 색소 성분인 제아잔틴은 마또나 품종에서 151.39 ± 5.94 mg/100g d.w.로 가장 높았으며 총 카로티노이드 함량 역시 190.43 ± 6.93 mg/100g d.w.로 가장 높았다. 노란색 파프리카는 다른 색상보다 카로티노이드 함량이 전체적으로 낮은 것을 확인할 수 있었으며, 주요 색소성분인 루테인이 스펀과 콜레티에서 각각 13.16 ± 1.32 와 13.83 ± 1.16 mg/100g d.w.로 가장 높은 것을 확인할 수 있었다. 앤서잔틴의 경우 적색 파프리카에서는 검출되지 않고 주황과 노랑 파프리카에서 검출되는 것을 확인할 수 있었다.

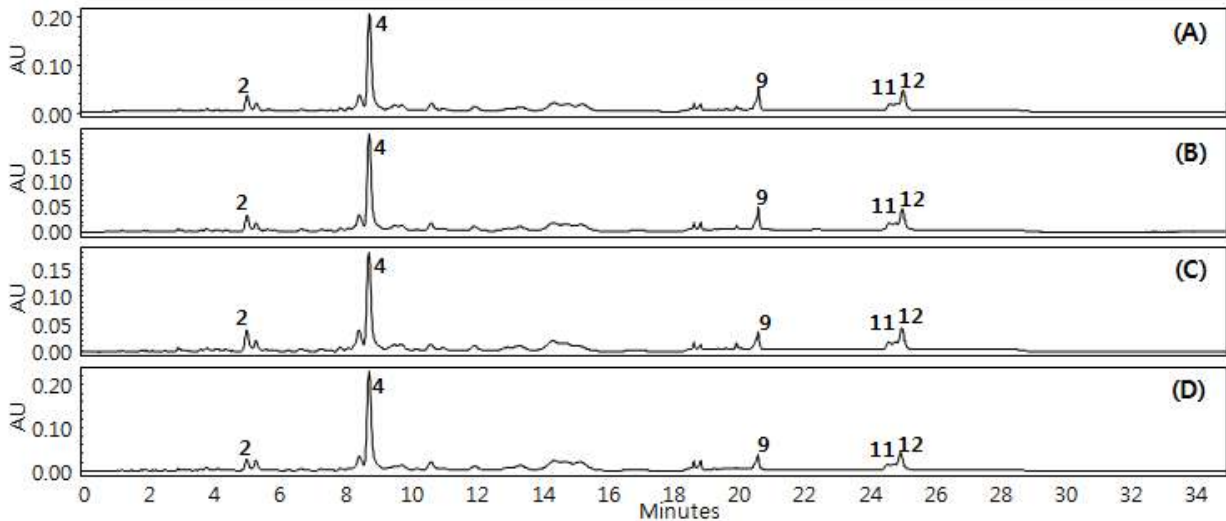


그림 18. 적색 파프리카의 카로티노이드 크로마토그램 (전북농업기술원) 레드마운틴(A), 메그니피코(B), 나가노(C), 프릴루리움(D) 1, neoxanthin; 2, capsorubin; 3, violaxanthin; 4, capsanthin; 5, antheraxanthin; 6, zeaxanthin; 7, lutein; 8, α -cryptoxanthin; 9, β -cryptoxanthin; 10, lycopene; 11, α -carotene; 12, β -carotene

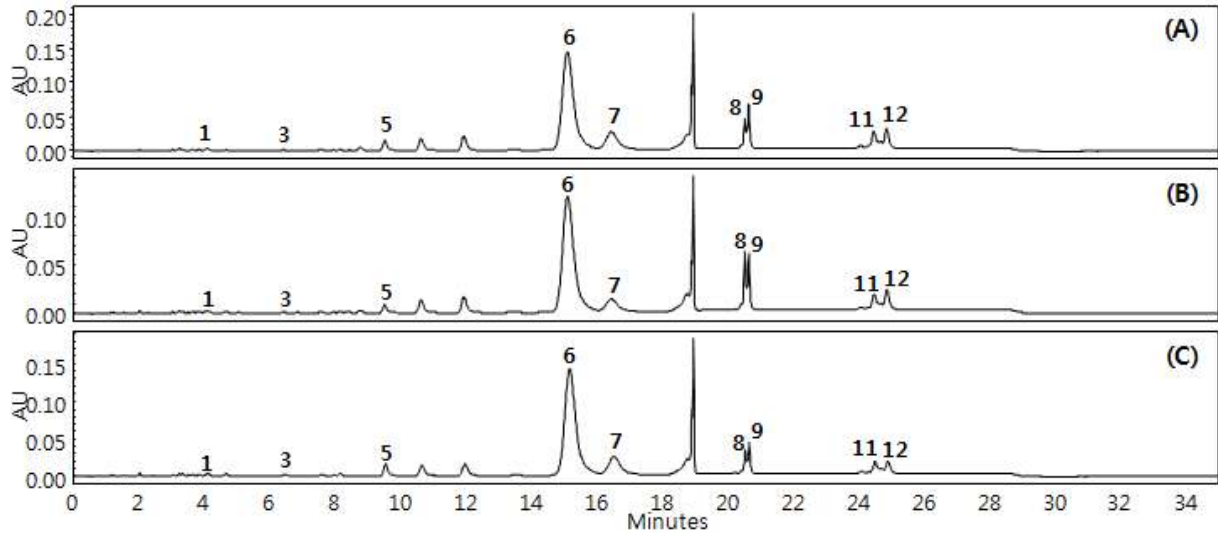


그림 19. 주황 파프리카의 카로티노이드 크로마토그램 (전북농업기술원) 마쭝나(A), 오렌지글로리(B), 오렌지스타(C) 1, neoxanthin; 2, capsorubin; 3, violaxanthin; 4, capsanthin; 5, antheraxanthin; 6, zeaxanthin; 7, lutein; 8, α -cryptoxanthin; 9, β -cryptoxanthin; 10, lycopene; 11, α -carotene; 12, β -carotene

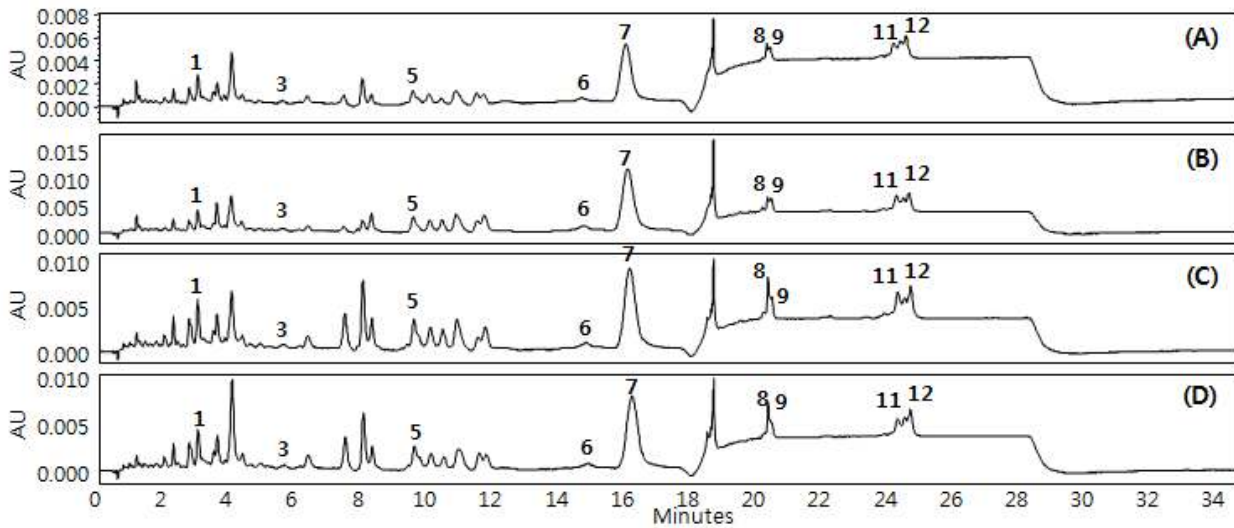


그림 20. 노랑 파프리카의 카로티노이드 크로마토그램 (전북농업기술원) 요리트(A), 스벤(B), 콜레티(C), 아트란테(D) 1, neoxanthin; 2, capsorubin; 3, violaxanthin; 4, capsanthin; 5, antheraxanthin; 6, zeaxanthin; 7, lutein; 8, α -cryptoxanthin; 9, β -cryptoxanthin; 10, lycopene; 11, α -carotene; 12, β -carotene

표 21. 색상별 파프리카의 카로티노이드 함량 (전북농업기술원)

(mg/100g of dry weight)

색상	품종	Neoxanthin	Capsorubin	Violaxanthin	Capsanthin	Antheraxanthin	Zeaxanthin	Lutein	α -Cryptoxanthin	β -Cryptoxanthin	α -Carotene	β -Carotene	Total carotenoids
적색	레드 마운틴	-	4.60±0.83	-	31.80±5.25	-	-	-	-	0.59±0.18	0.90±0.33	2.73±0.89	43.32±7.95
	메그니피코	-	4.48±0.90	-	28.33±3.27	-	-	-	-	0.40±0.04	0.71±0.01	2.06±0.07	35.99±4.06
	나가노	-	4.01±0.36	-	22.88±1.90	-	-	-	-	0.31±0.02	0.60±0.01	2.01±0.06	29.82±2.33
	프릴 루리움	-	2.67±0.11	-	29.56±0.77	-	-	-	-	0.33±0.03	0.55±0.05	1.94±0.17	35.05±1.03
주황	마조나	0.43±0.01	-	0.29±0.00	-	6.19±0.11	151.39±5.94	28.09±1.22	0.40±0.39	1.12±0.05	1.00±0.00	1.23±0.01	190.43±6.93
	오렌지글로리	0.28±0.08	-	0.26±0.05	-	5.52±2.45	145.92±16.13	15.77±1.86	1.38±0.12	1.09±0.10	0.75±0.08	0.98±0.11	171.95±20.98
	오렌지스타	0.30±0.07	-	0.22±0.12	-	4.47±1.95	140.05±17.73	25.27±3.93	0.59±0.09	0.64±0.09	0.60±0.07	0.62±0.07	172.77±24.13
노랑	요리트	0.70±0.20	-	0.14±0.04	-	0.81±0.31	0.66±0.38	8.75 ±2.81	0.04±0.01	0.03±0.01	0.09±0.03	0.15±0.05	11.38±3.84
	스벤	0.79±0.08	-	0.20±0.01	-	1.06±0.24	0.63±0.05	13.16 ±1.32	0.05±0.00	0.05±0.01	0.13±0.02	0.15±0.02	16.21±1.73
	콜레티	0.92±0.08	-	0.72±0.36	-	1.48±0.08	0.71±0.07	13.83 ±1.16	0.11±0.01	0.05±0.00	0.16±0.01	0.21±0.02	18.20±1.78
	아트란테	1.43±0.16	-	1.05±0.70	-	-	0.45±0.11	11.97 ±0.68	0.10±0.10	0.03±0.00	0.10±0.00	0.17±0.00	15.31±1.67

¹⁾All results are expressed as mean±SD for three replicates.

- 경남농업기술원에서 제공받은 시료의 카로티노이드 분석 결과는 표 22와 같다. 적색 미니파프리카의 주요 색소 성분인 캡산틴은 20×23 시료에서 28.62±1.15 mg/100g d.w.로 가장 높았다. 적색 피노키오 파프리카인 Acrobat 품종에서 수경재배 시 캡산틴 함량이 46.72±9.44 mg/100g d.w., 토경재배 시 캡산틴 함량이 29.57±4.58 mg/100g d.w.로 수경재배 시 캡산틴 함량이 토경재배보다 높았다. 적색 미니 파프리카 중 98×21 시료에서 다른 적색 미니 파프리카와는 달리 캡소루빈은 검출되지 않았으며, 캡산틴 함량이 3.98±0.90 mg/100g d.w.로 가장 낮았으며, 제아잔틴이 121.41±30.10 mg/100g d.w.로 다량 함유되어 있는 것을 확인할 수 있었다.
- 주황색 미니 파프리카의 주요 색소 성분인 제아잔틴은 98×101 시료에서 115.53±1.36 mg/100g d.w.로 그 함량이 가장 높았으며, 총 카로티노이드 함량 역시 높았다. 주황색 피노키오 파프리카인 Oranos 품종에서 수경재배 시 제아잔틴 함량이 49.05±25.33 mg/100g d.w., 토경재배 시 제아잔틴 함량이 112.64±3.17 mg/100g d.w.로 주황색 피노키오 파프리카에서 토경재배가 수경재배보다 제아잔틴 함량이 높은 것을 확인할 수 있었다. 주황색 미니와 피노키오 파프리카에서 적색과와 달리 앤서잔틴이 검출되는 것을 확인할 수 있었다.
- 노란색 미니 파프리카의 주요 색소 성분은 루테인이며, 98×25 시료에서 그 함량이 24.98±3.22 mg/100g d.w.로 가장 높았다. 노란색 피노키오 파프리카인 Xanthi 품종에서 수경재배 시 루테인 함량은 29.10±2.27 mg/100g d.w.이며, 토경재배 시 루테인 함량은 26.76±0.64 mg/100g d.w.로 수경재배 시 루테인 함량이 토경재배 보다 그 함량이 약간 높은 것을 확인할 수 있었다.

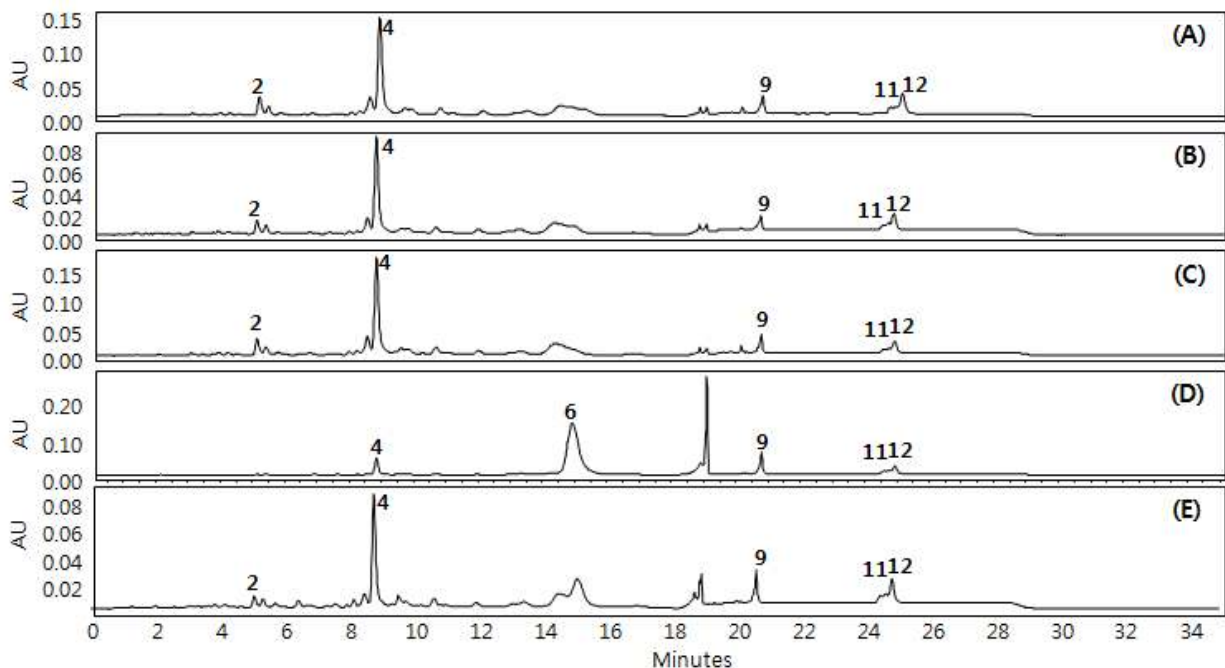


그림 21. 적색 미니 파프리카의 카로티노이드 크로마토그램 (경북농업기술원) 20×23(A), 52×23(B), 74×23(C), 98×21(D), RD-Glory(E) 1, neoxanthin; 2, capsorubin; 3, violaxanthin; 4, capsanthin; 5, antheraxanthin; 6, zeaxanthin; 7, lutein; 8, α-cryptoxanthin; 9, β-cryptoxanthin; 10, lycopene; 11, α-carotene; 12, β-carotene

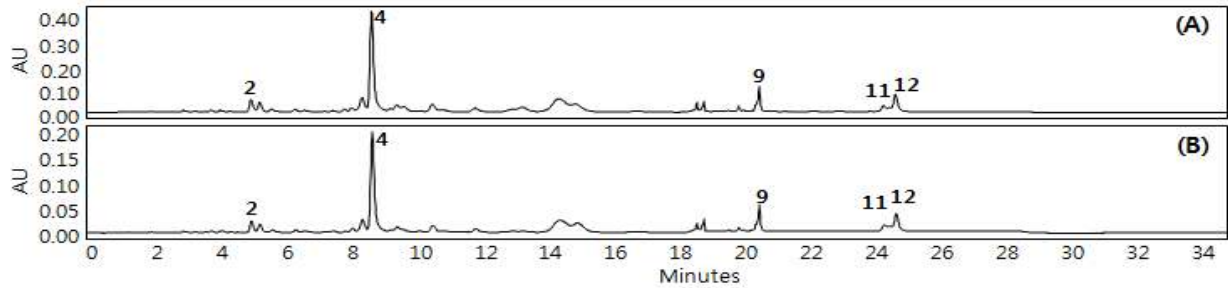


그림 22. 적색 피노키오 파프리카의 카로티노이드 크로마토그램 (경북농업기술원) Acrobot(수경)(A), Acrobot(토경)(B) 1, neoxanthin; 2, capsorubin; 3, violaxanthin; 4, capsanthin; 5, antheraxanthin; 6, zeaxanthin; 7, lutein; 8, α -cryptoxanthin; 9, β -cryptoxanthin; 10, lycopene; 11, α -carotene; 12, β -carotene

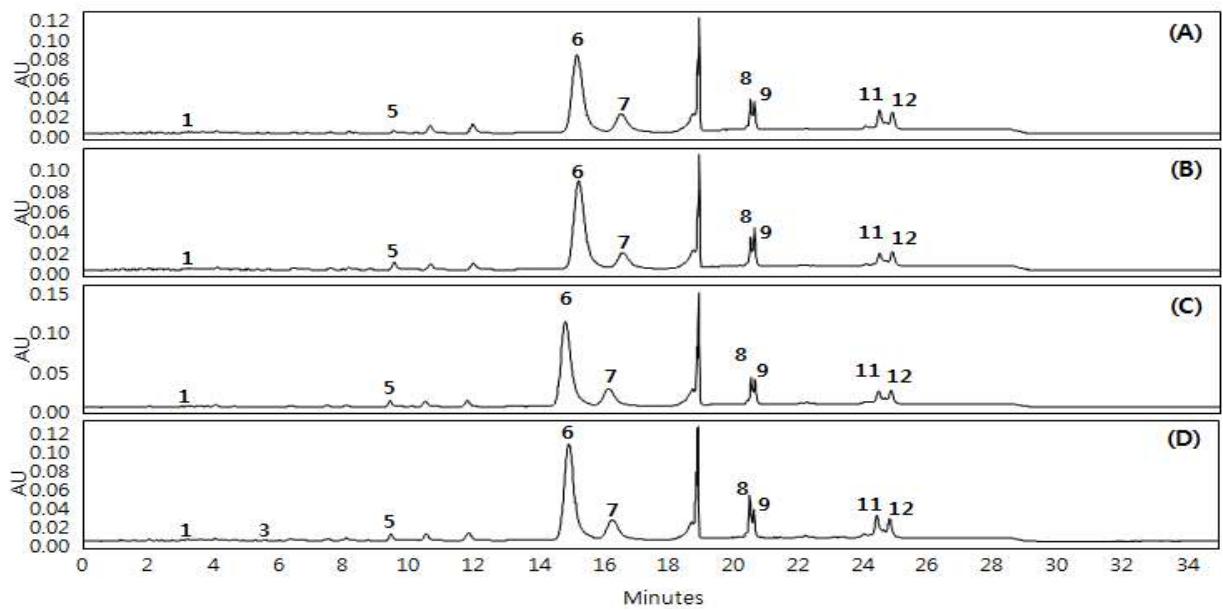


그림 23. 주황 미니 파프리카의 카로티노이드 크로마토그램 (경북농업기술원) 48×49(A), 98×44(B), 98×101(C), OE-Glory(D) 1, neoxanthin; 2, capsorubin; 3, violaxanthin; 4, capsanthin; 5, antheraxanthin; 6, zeaxanthin; 7, lutein; 8, α -cryptoxanthin; 9, β -cryptoxanthin; 10, lycopene; 11, α -carotene; 12, β -carotene

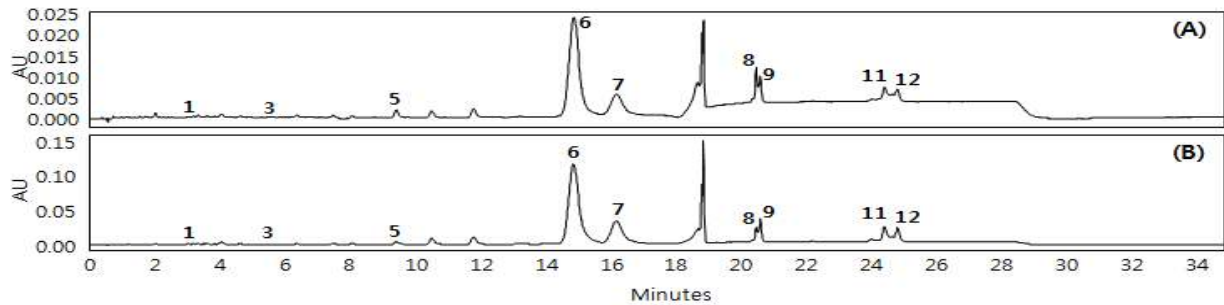


그림 24. 주황 피노키오 파프리카의 카로티노이드 크로마토그램 (경북농업기술원) Oranos(수경)(A), Oranos(토경)(B) 1, neoxanthin; 2, capsorubin; 3, violaxanthin; 4, capsanthin; 5, antheraxanthin; 6, zeaxanthin; 7, lutein; 8, α -cryptoxanthin; 9, β -cryptoxanthin; 10, lycopene; 11, α -carotene; 12, β -carotene

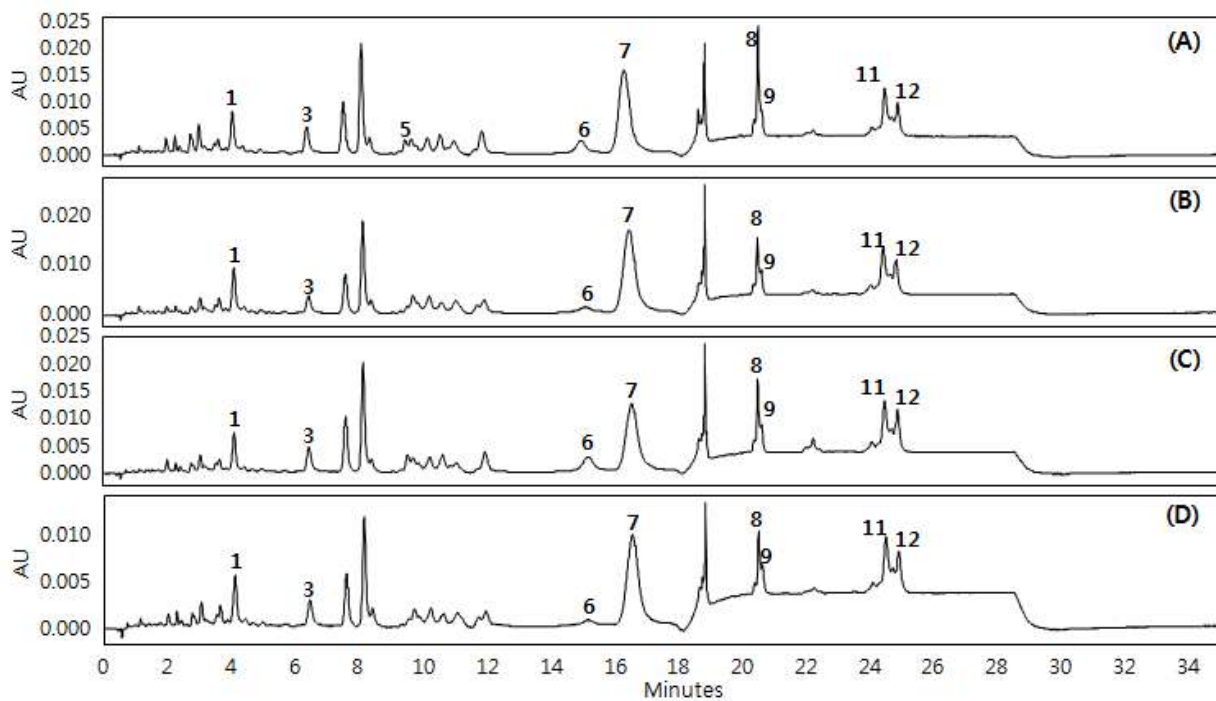


그림 25. 노랑 미니 파프리카의 카로티노이드 크로마토그램 (경북농업기술원) 52×27(A), 92×27(B), 98×25(C), YW-Glory(D) 1, neoxanthin; 2, capsorubin; 3, violaxanthin; 4, capsanthin; 5, antheraxanthin; 6, zeaxanthin; 7, lutein; 8, α -cryptoxanthin; 9, β -cryptoxanthin; 10, lycopene; 11, α -carotene; 12, β -carotene

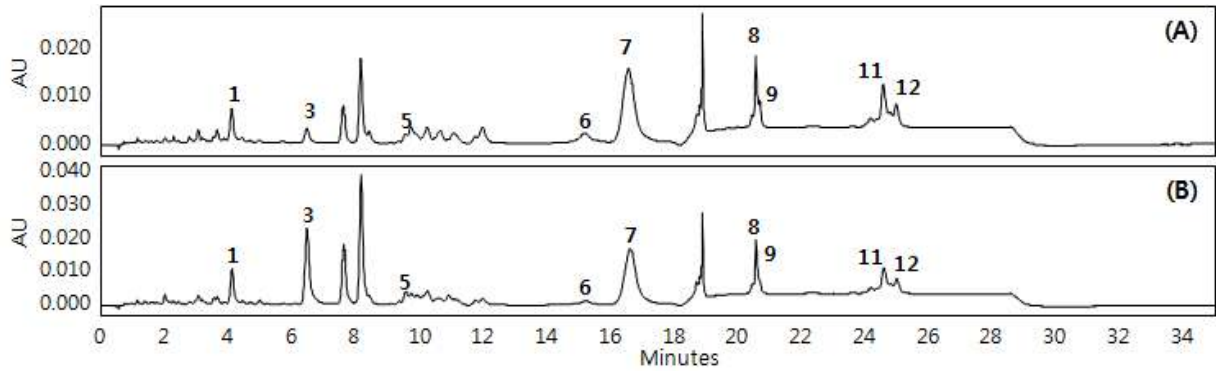


그림 26. 노랑 피노키오 파프리카의 카로티노이드 크로마토그램 (경북농업기술원) Xanthi (수경)(A), Xanthi(토경)(B) 1, neoxanthin; 2, capsorubin; 3, violaxanthin; 4, capsanthin; 5, antheraxanthin; 6, zeaxanthin; 7, lutein; 8, α -cryptoxanthin; 9, β -cryptoxanthin; 10, lycopene; 11, α -carotene; 12, β -carotene

표 22. 색상별 파프리카의 카로티노이드 함량 (경남농업기술원)

(mg/100g of dry weight)

색상	품종	Neoxanthin	Capsorubin	Violaxanthin	Capsanthin	Antheraxanthin	Zeaxanthin	Lutein	α-Cryptoxanthin	β-Cryptoxanthin	α-Carotene	β-Carotene	Total carotenoids
적색	20×23	-	2.59±0.19	-	28.62±1.15	-	-	-	-	0.32±0.03	0.53±0.06	1.88±0.20	33.94±1.59
	52×23	-	1.38±0.17	-	11.04±1.44	-	-	-	-	0.09±0.01	0.24±0.02	0.77±0.10	13.51 ±1.74
	74×23	-	3.45±0.23	-	23.78±1.38	-	-	-	-	0.30±0.03	0.39±0.04	1.20±0.08	29.11 ±1.75
	98×21	-	-	-	3.98±0.90	-	121.41±30.10	-	-	0.39±0.17	0.27±0.06	0.76±0.21	126.81±31.43
	RD-Glory	-	0.95±0.11	-	10.66±0.58	-	-	-	-	0.47±0.24	0.25±0.02	0.86±0.03	37.25±0.78
	Acrobat	-	4.50±0.71	-	46.74±9.44	-	-	-	-	0.85±0.13	0.93±0.20	2.78±0.54	55.80±11.02
	Acrobat (토경)	-	2.81±0.44	-	29.57±4.58	-	-	-	-	0.64±0.13	0.85±0.21	2.33±0.52	36.20±5.86
주황	48×49	0.25±0.01	-	-	-	0.89±0.08	88.80±1.30	22.24±0.62	0.71±0.00	0.55±0.01	0.81±0.01	0.76±0.02	115.01±1.79
	98×44	0.26±0.02	-	-	-	1.87±0.95	89.89±3.54	17.32±0.59	0.61±0.02	0.64±0.02	0.62±0.06	0.63±0.01	111.83±5.21
	98×101	0.37±0.01	-	-	-	3.06±0.39	115.53±1.36	25.10±0.48	0.79±0.03	0.61±0.02	0.72±0.04	0.75±0.03	146.93±2.36
	OE-Glory	0.20±0.08	-	0.28±0.08	-	2.00±0.61	85.06±23.37	19.31±4.90	0.88±0.24	0.48±0.14	0.82±0.18	0.66±0.19	109.69±29.79
	Oranos	0.17±0.01	-	0.08±0.01	-	0.88±0.18	49.05±25.33	11.07±5.38	0.41±0.19	0.26±0.13	0.33±0.20	0.32±0.20	62.57±31.72
	Oranos (토경)	0.36±0.02	-	0.16±0.05	-	2.45±0.97	112.64±3.17	37.69±1.57	0.49±0.01	0.68±0.02	0.98±0.01	0.91±0.00	166.36±3.76
노랑	52×27	1.00±0.01	-	2.85±1.65	-	1.35±0.50	2.22±0.22	21.08±1.03	0.09±0.02	0.43±0.05	0.40±0.03	0.30±0.00	29.70±0.82
	92×27	0.85±0.35	-	0.85±0.11	-	-	1.27±0.10	18.32±8.32	0.06±0.01	0.29±0.00	0.40±0.10	0.29±0.08	22.32±8.86
	98×25	1.14±0.12	-	1.63±0.27	-	-	4.56±0.56	24.98±3.22	0.07±0.01	0.39±0.03	0.56±0.07	0.49±0.05	33.81±4.34
	YW-Glory	0.65±0.15	-	0.55±0.25	-	-	1.19±0.63	15.17±1.53	0.06±0.02	0.27±0.08	0.29±0.02	0.27±0.04	18.45±1.25
	Xanthi	0.13±0.02	-	0.89±0.03	-	-	3.08±0.33	29.10±2.27	0.09±0.01	0.42±0.03	0.45±0.02	0.25±0.01	35.32±2.64
	Xanthi (토경)	1.40±0.18	-	3.70±2.84	-	-	0.93±0.05	26.76±0.64	0.09±0.00	0.42±0.01	0.38±0.00	0.21±0.00	33.88±3.73

¹⁾All results are expressed as mean±SD for three replicates.

제 2 절. 파프리카의 관능적 품질 평가

1. 파프리카 관능 평가 도구 지표 설정 및 도구 개발

- 파프리카의 관능평가를 위한 용어 개발을 위해 선행연구에서 평가하였던 항목인 외관(크기, 색상, 광택성), 조직감(경도, 과즙성), 맛(단맛, 매운맛, 신맛)에 자료조사 및 연구진의 집중 토의를 통해 파프리카만의 고유한 품질인자로 쓴맛(bitter taste), 오이향(cucumber aroma), 풋내(grassy aroma), 풋고추향(green pepper aroma)을 추가적으로 선정하여 관능평가도구를 개발하였다.

		파프리카 관능검사				
		□칸에 녹색은 G, 주황는 O, 노랑은 Y로, 적색은 R로 표기해주세요				
Appearance						
크기(size)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	너무 작다	작다	보통	크다	너무 크다	
색상(color)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	너무 약하다	약하다	보통	강하다	너무 강하다	
표면의 광택성(glossy)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	너무 약하다	약하다	보통	강하다	너무 강하다	
선호도(preference)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	너무 나쁘다	나쁘다	보통	좋다	너무 좋다	
Texture						
경도(hardness)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	너무 약하다	약하다	보통	강하다	너무 강하다	
과즙성(juiciness)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	너무 약하다	약하다	보통	강하다	너무 강하다	
선호도(preference)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	너무 나쁘다	나쁘다	보통	좋다	너무 좋다	
맛(Taste)						
단맛(sweetness)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	너무 약하다	약하다	보통	강하다	너무 강하다	
매운맛(pungent)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	너무 약하다	약하다	보통	강하다	너무 강하다	
신맛(acidness)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	너무 약하다	약하다	보통	강하다	너무 강하다	
쓴맛(bitter)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	너무 약하다	약하다	보통	강하다	너무 강하다	
선호도(preference)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	너무 나쁘다	나쁘다	보통	좋다	너무 좋다	
풍미(flavor)						
풋내(grassy aroma)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	너무 약하다	약하다	보통	강하다	너무 강하다	
풋고추향(green pepper aroma)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	너무 약하다	약하다	보통	강하다	너무 강하다	
오이향(cucumber aroma)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	너무 약하다	약하다	보통	강하다	너무 강하다	
선호도(preference)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	너무 나쁘다	나쁘다	보통	좋다	너무 좋다	
Overall acceptability	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	너무 나쁘다	나쁘다	보통	좋다	너무 좋다	

그림 27. 파프리카 관능평가를 위한 항목 및 평가지 개발

2. 파프리카의 색도와 경도 측정

- 수집된 색상별 품종별 파프리카의 색도와 경도는 파프리카를 일정한 크기(2.0 × 2.0 cm)로 자른 뒤 색차계(CM-3500D, Minolta, Japan)와 Texture analyzer (TA/XT2, Stable Micro System, UK)를 이용하여 측정하였다. 색도 분석 시 Color space는 hunter 색차계인 L(명도), a(적색도), b(황색도)로 측정하였다.
- 전북농업기술원에서 제공받은 파프리카의 색도 및 경도 측정 결과는 표 23과 같다. 적색과에서는 명도를 나타내는 L값이 유의차가 없었으며, 나가노의 a값이 26.11±1.77로 가장 낮아 적색도가 가장 낮은 것으로 확인되었으며, 주황색과에서는 적색도를 나타내는 a값이 유의차가 없었으며, 오렌지글로리의 L값이 40.17±2.14, b값이 32.80±2.18로 가장 낮았다. 노란색과에서는 황색도를 나타내는 b값이 유의차가 없었으며, 아트란테의 L값이 52.61±1.59으로 가장 높았으며, 콜레티의 a값이 4.83±0.40으로 가장 낮았다. 경도는 적색과 중 레드마운틴과 메그니피코가 각각 1362.13±29.31과 1323.96±61.62로 가장 높았으며, 주황색과 중 오렌지글로리가 1457.64±99.06으로 가장 높았다. 노란색과 중에서는 요리트가 1210.88±61.66으로 가장 높았다.

표 23. 색상별 파프리카의 색도 및 경도 분석 결과(전북농업기술원 시료)

색상	이름 및 품종	L	a	b	Force(g)
적색	레드마운틴	30.63±2.16 ^{NS)}	31.79±0.49 ^{a)}	17.00±0.53 ^{ab)}	1362.13±29.31 ^{a)}
	메그니피코	29.81±0.52	30.56±3.39 ^{a)}	15.68±1.53 ^{ab)}	1323.98±61.62 ^{a)}
	나가노	29.31±0.77	26.11±1.77 ^{b)}	14.03±1.51 ^{b)}	942.28±51.33 ^{b)}
	프릴루리움	31.24±1.05	33.38±3.17 ^{a)}	18.00±3.41 ^{a)}	700.03±39.80 ^{c)}
주황	마쭈나	44.18±1.76 ^{a)}	25.39±2.60 ^{NS)}	41.97±5.20 ^{a)}	876.01±25.68 ^{b)}
	오렌지스타	43.21±0.99 ^{a)}	24.29±3.02	38.89±3.34 ^{ab)}	671.80±27.02 ^{c)}
	오렌지글로리	40.17±2.14 ^{b)}	22.14±0.99	32.80±2.18 ^{b)}	1457.64±99.06 ^{a)}
노랑	스벤	47.45±2.55 ^{b)}	8.96±1.20 ^{a)}	45.40±5.13 ^{NS)}	999.17±68.03 ^{b)}
	콜레티	48.05±1.29 ^{b)}	4.83±0.40 ^{b)}	45.34±4.00	745.68±57.26 ^{c)}
	요리트	49.34±0.99 ^{b)}	10.23±1.88 ^{a)}	46.79±4.68	1210.88±61.66 ^{a)}
	아트란테	52.61±1.59 ^{a)}	7.87±1.32 ^{a)}	50.60±4.94	1050.72±58.41 ^{b)}

¹⁾All results are expressed as mean±SD for three replicates.

- 경남농업기술원에서 제공받은 파프리카의 색도 및 경도 측정 결과는 표 24와 같다. 적색과에서 미니파프리카인 98x21와 RD-Glory의 L값이 39.69±2.12와 38.33±1.50으로 유의하게 높았다. 특히 RD-Glory의 경우 L, a, b값과 경도가 모두 유의하게 높은 것을 확인할 수 있었다. 주황색과에서 48×49와 OE-Glory 시료에서 L, a, b값과 경도가 유의하게 높은 것을 확인할 수 있었다. 노란색과에서는 피노키오 파프리카인 Xanthi 품종 중 토경 재배에서 L값과 b값이 각각 56.78±1.01과 59.66±4.62로 유의하게 높았다.

표 24. 색상별 파프리카의 색도 및 경도 분석 결과(경남농업기술원 시료)

색상	이름 및 품종	L	a	b	Force(g)
적색	20x23	35.03±0.66 ^b	37.91±2.24 ^{ab}	21.21±0.86 ^b	1190.70±77.66 ^a
	52x23	33.43±1.30 ^b	36.50±3.18 ^b	21.28±2.05 ^b	1032.02±53.42 ^{ab}
	74x23	32.30±1.23 ^b	36.21±2.77 ^b	19.79±0.69 ^b	747.40±69.80 ^d
	98x21	39.69±2.12 ^a	34.93±2.25 ^b	28.03±2.50 ^a	940.70±96.29 ^{bc}
	RD glory	38.33±1.50 ^a	41.81±0.92 ^a	27.70±1.64 ^a	1064.91±149.44 ^{ab}
	Acrobat	33.43±1.60 ^b	34.98±1.75 ^b	18.25±2.52 ^b	818.17±68.97 ^{cd}
	Acrobat(토경)	33.30±1.56 ^b	34.55±2.86 ^b	19.21±2.89 ^b	766.29±31.44 ^d
주황	48x49	50.87±0.63 ^a	35.91±1.58 ^a	49.60±1.28 ^a	1076.38±101.35 ^{ab}
	98x44	46.98±2.20 ^b	31.32±2.14 ^b	41.16±2.94 ^b	993.04±90.64 ^{ab}
	98x101	49.28±1.48 ^{ab}	30.65±1.69 ^b	45.70±4.22 ^{ab}	783.72±93.80 ^c
	OE glory	49.28±2.03 ^{ab}	31.00±1.31 ^b	43.25±3.20 ^b	1096.04±67.74 ^a
	Oranos	48.94±1.23 ^b	27.97±1.02 ^b	41.48±3.02 ^b	951.36±60.50 ^{abc}
	Oranos(토경)	48.27±1.48 ^{ab}	28.55±2.51 ^b	44.42±2.01 ^{ab}	909.05±122.92 ^{bc}
노랑	52x27	52.94±1.87 ^{bc}	16.40±0.86 ^{ab}	50.65±2.85 ^{bc}	1122.81±87.86 ^a
	92x27	56.06±2.72 ^{ab}	14.51±1.50 ^b	56.13±4.53 ^{ab}	709.10±62.75 ^b
	98x25	54.89±1.80 ^{ab}	17.03±1.18 ^{ab}	54.69±3.80 ^{abc}	814.43±86.31 ^b
	YW glory	55.08±1.19 ^{ab}	18.20±2.62 ^a	50.84±4.31 ^{bc}	1014.14±96.48 ^a
	Xanthi	50.34±1.49 ^c	14.88±1.77 ^b	47.84±2.71 ^c	711.36±57.52 ^b
	Xanthi(토경)	56.78±1.01 ^a	14.04±1.29 ^b	59.68±4.62 ^a	754.65±54.53 ^b

○ 색상별 피노키오 파프리카의 수경재배와 토경재배의 색도와 경도 차이를 통계적 유의성으로 살펴본 결과 통계적 유의차를 나타내지 않는 것이 확인되었다(표 25).

표 25. 색상별 피노키오 파프리카 수경재배와 토경재배 간 색도 및 경도 비교 (경남농업기술원 시료)

색상 및 품종	수경	토경	F value
적색(Acrobat)			
L	33.43±1.60	33.30±1.56	0.060 ^{NS)}
a	34.98±1.75	34.55±2.86	0.405
b	18.25±2.52	19.21±2.89	0.358
Force(g)	818.17±68.97	766.29±31.44	0.938 ^{NS)}
주황(Oranos)			
L	48.94±1.23	48.27±1.48	0.652 ^{NS)}
a	27.97±1.02	28.55±2.51	0.238
b	41.48±3.02	44.42±2.01	0.466
Force(g)	951.36±60.50	909.05±122.92	1.490 ^{NS)}
노랑(Xanthi)			
L	50.34±1.49	56.78±1.01	1.172 ^{NS)}
a	14.88±1.77	14.04±1.29	0.400
b	47.84±2.71	59.68±4.62	0.504
Force(g)	711.36±57.52	754.65±54.53	0.002 ^{NS)}

3. 개발된 파프리카 관능평가지를 활용한 관능 품질 평가

- 품종별 적색, 주황색, 노란색 파프리카의 관능검사는 방송통신대학교 학과 조교 및 서울대학교 식품영양학과 대학원생 40명을 대상으로 검사방법과 평가 특성에 대하여 교육시킨 후, 다음과 같은 특성에 대하여 관능평가를 실시하였다. 파프리카는 전북농업기술원 시료에서 적색과 중 나가노와 프릴루리움, 주황색과 중 마쫂나와 오렌지스타, 노란색과 중 스벤과 콜레티를 선정하였으며 일정한 크기(0.5×5.0 cm)로 준비하여 흰색 폴리에틸렌 1회용 접시에 담아 일정하게 난수표를 붙여 관능평가원에게 제공하였고, 한 개의 시료를 먹고 난 후에는 물로 입안을 헹군 다음 시료를 평가하도록 하였다. 평가한 관능평가 항목은 1차년도에 파프리카 관능평가를 위해 개발된 평가지를 적용하였으며, 그 내용은 외관(크기, 색상, 광택성), 조직감(경도, 과즙성), 맛(단맛, 매운맛, 쓴맛), 향(꽃고추향, 오이향), 전체적 기호도이며 평가지 내용은 그림 27과 같다. 모든 특성은 5단계로 평가하여 5점 척도법으로 검사법을 실시하였다. 평가방법은 관능검사 항목에 대해 (너무 나쁘다 또는 너무 약하다: 1점, 나쁘다 또는 약하다: 2점, 보통: 3점, 좋다 또는 강하다: 4점, 너무 좋다 또는 너무 강하다: 5점) 평가하여 숫자가 클수록 특성이 높은 것으로 하였다.
- 색상별 파프리카의 관능평가 결과는 표 26와 같다. 크기는 노랑 파프리카 스벤과 콜레티에서 통계적으로 유의하게 차이가 났으며, 단맛의 경우 적색 프릴루리움과 주황색 오렌지스타가 각각 2.90±0.85점, 3.66±0.67점으로 품종 간 유의차가 나타났다. 노랑 파프리카인 스벤과 콜레티에서 쓴맛이 통계적 유의성을 보였다. 적색과인 나가노가 프릴루리움보다 꽃고추향이 더 약하다고 응답하였다($P<0.05$).

표 26. 색상별 파프리카의 관능평가 결과(전북농업기술원 시료)

	적색			주황			노랑		
	나가노	프릴루리움	F value	마쭈나	오렌지스타	F value	스벤	콜레티	F value
Appearance									
크기 (size)	3.17±0.53	3.90±0.55	0.086	2.60±0.50	3.59±0.57	1.330	2.63±0.72	3.90±0.55	5.430*
색상 (color)	3.63±0.72	3.87±0.63	3.579	2.83±0.70	3.72±0.46	1.397	3.60±0.56	2.57±0.73	2.335
광택성 (glossy)	3.47±0.63	3.43±0.90	2.520	2.97±0.81	3.41±0.57	0.275	3.13±0.86	2.63±0.62	2.397
Texture									
경도 (hardness)	3.40±0.77	3.37±0.62	1.003	3.47±0.78	3.14±0.83	0.001	3.57±0.63	2.97±0.77	0.127
과즙성 (juiciness)	3.23±0.68	3.50±0.57	0.150	3.07±0.83	3.69±0.71	0.000	3.03±0.72	3.47±0.82	2.599
Taste									
단맛 (sweetness)	2.73±1.11	2.90±0.85	5.471*	3.20±1.03	3.66±0.67	4.404*	2.43±0.97	3.10±1.00	0.050
매운맛 (pungent)	1.73±0.91	1.97±1.03	0.538	1.80±0.93	1.90±1.01	0.086	1.87±1.01	1.70±0.84	1.192
쓴맛 (bitter)	1.80±0.93	2.03±1.00	0.051	1.87±1.04	1.72±0.8	1.231	2.23±1.14	1.63±0.72	7.514**
Flavor									
풋고추향 (green pepper aroma)	2.43±0.86	3.10±0.61	6.977*	2.60±1.04	2.72±1.00	0.164	2.83±0.99	2.67±0.99	0.184
오이향 (cucumber aroma)	2.70±1.02	2.77±0.86	1.380	2.37±1.10	2.76±1.06	0.010	2.73±0.87	2.57±0.94	0.295
Overall acceptability	3.00±0.91	3.33±0.76	0.000	3.30±0.92	3.66±0.94	0.075	2.73±0.83	3.50±0.68	0.254

- 관능검사를 수행한 시료들에 대해 기기를 이용한 물리적 분석법으로 색도와 경도에서 차이를 나타내는지 확인하기 위하여 분석 후 t-test를 수행하였으며, 그 결과는 표 27과 같다. 관능평가 수행 시 색상과 경도에서 색상에 따른 품종 간 유의차가 나타나지 않았으며, 기기를 이용한 물리적 평가 역시 동일한 것을 확인할 수 있었다. 그러나 관능평가 수행 시 1차년도에서 관능평가 항목으로 개발된 풋고추향과 오이향 등과 더불어 외관, 질감, 맛, 향 뿐만 아니라 전체적 기호도까지 평가할 수 있으므로 개발된 파프리카 관능평가 항목은 파프리카 농가에서 소비자의 기호도 평가를 위해 활용 가능할 것이라 사료된다.

표 27. 색상별 파프리카의 관능평가 시료 간 색도와 경도 비교(전북농업기술원 시료)

	적색			주황			노랑		
	나가노	프릴루리움	F value	마쭈나	오렌지스타	F value	스벤	콜레티	F value
L	29.31±0.77	31.24±1.05	1.264 ^{NS)}	44.18±1.76	43.21±0.99	0.477 ^{NS)}	47.45±2.55	48.05±1.29	0.004 ^{NS)}
a	26.11±1.77	33.38±3.17	0.715	25.39±2.60	24.29±3.02	0.214	8.96±1.20	4.83±0.40	4.254
b	14.03±1.51	18.00±3.41	1.361	41.97±5.20	38.89±3.34	0.326	45.40±5.13	45.34±4.00	1.123
Force(g)	942.28±51.33	700.03±39.80	0.911 ^{NS)}	876.01±25.68	671.80±27.02	0.000 ^{NS)}	999.17±68.03	745.68±57.26	0.283 ^{NS)}

제 3 절. 파프리카의 카로티노이드 분석과 관능평가를 위한 표준분석법(SOP)

- 파프리카의 카로티노이드 분석을 위한 SOP는 실험을 위한 생 파프리카의 전처리 방법, 카로티노이드 추출법, 적색 파프리카의 주요 색소인 캡산틴의 신속 분석법 및 파프리카 유래 여러 카로티노이드 색소의 동시분석법을 기술하였으며, 그 표지와 목차는 그림 28과 같다.

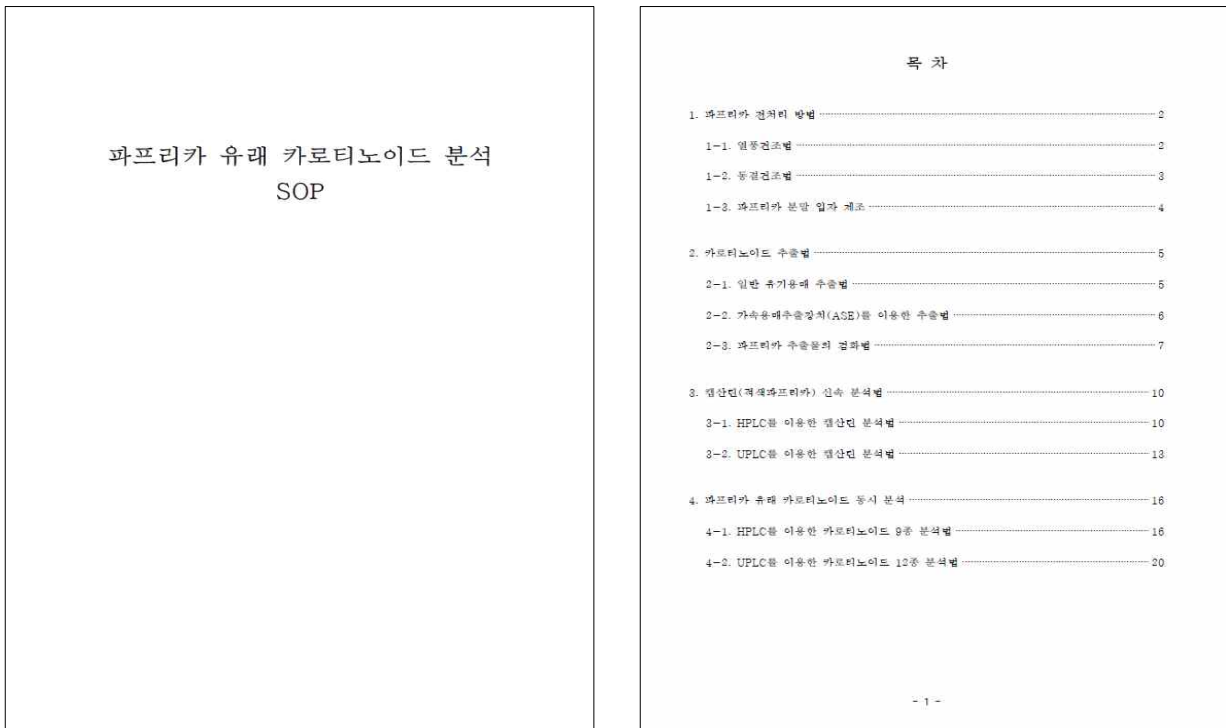


그림 28. 파프리카 유래 카로티노이드 분석 SOP의 표지와 목차

- 파프리카의 유래 카로티노이드 분석을 위해 생 파프리카의 전처리 방법으로 열풍건조법과 동결건조법의 SOP를 작성하였으며, 생 파프리카의 수세, 절단, 건조 전 보관 방법 기술 및 각 건조방법에 따라 기기의 예를 들어 설명하였으며, 파프리카 분석을 위한 건조 후 분말 입자 제조 SOP에서 역시 분말입자 제조 시 주의점 및 분말 입자 크기까지 각각에 해당하는 예를 기술하였다. 분석을 위해 전처리된 파프리카 시료에서 카로티노이드 색소를 추출하는 방법을 일반유기용매추출법과 가속용매추출장치(ASE)를 이용하여 추출하는 방법으로 구분하여 SOP를 작성하였으며, 추출 후 검화하는 과정을 자세히 기록하여 누구나 쉽게 분석법에 접근할 수 있도록 SOP를 작성하였다(그림 29).

<h3>1. 파프리카 전처리 방법</h3> <h4>1-1. 열풍건조법</h4> <p>1. 시범방법 요약 본 실험법은 열 파프리카를 열풍건조기를 이용하여 수분을 제거하는 방법이다.</p> <p>2. 장비와 재료 2.1. 장비 • 열풍 건조기 • 열풍건조기</p> <p>3. 방법 3.1. 전처리 • 열 파프리카를 깨끗한 커튼 하중의 물을 분리기 않은 채 고온에 놓여있는 이물질들을 제거한다. • 비가스포스인 커피, 차, 설탕을 제거한 후, 잘게 잘라낸다.</p> <p>3.2. 건조 방법 • 전처리된 파프리카를 열풍건조기에서 건조한다.</p> <p>열풍건조기 사용 예 (기기: 엘리트 파워드 Forced Circulation Dryer) ① 열풍건조기 기기의 온도를 45-55°C로 맞추어 준다. ② 열풍건조기 시 온도를 80°C(비교)로 계속 유지하면 건조, 냉각이 대체되고 대량과 비가스포스인 커피, 차, 설탕을 제거한 후, 잘게 잘라낸다. ③ 비가스포스인 커피, 차, 설탕을 제거한 후, 잘게 잘라낸다. ④ 건조가 완료된 후 열풍건조기 기기의 열풍을 끈 후 입자를 제거하고, 냉각기를 끈 후 냉각이 끝나기까지 기다린다.</p> <p style="text-align: center;">- 2 -</p>	<h3>1-2. 동결건조법</h3> <p>1. 시범방법 요약 본 실험법은 열 파프리카를 동결건조기를 이용하여 수분을 제거하는 방법이다.</p> <p>2. 장비와 재료 2.1. 장비 • 열풍 건조기 • 열풍건조기</p> <p>3. 방법 3.1. 전처리 • 열 파프리카를 깨끗한 커튼 하중의 물을 분리기 않은 채 고온에 놓여있는 이물질들을 제거한다. • 비가스포스인 커피, 차, 설탕을 제거한 후, 잘게 잘라낸다. • 동결건조기 사용 시 일정 열이던 파프리카를 -70°C에서 열처리한다.</p> <p>3.2. 건조 방법 • 전처리된 파프리카를 동결건조기에서 건조한다.</p> <p>동결건조기 사용 예 (기기: Ulis Freeze Dryer) ① 동결건조기 기기의 냉각기를 가동시켜 기온 온도를 -50°C까지 낮춘다. ② 동결건조기 기기를 냉각시킨 후, 열풍 건조기를 가동시켜 입자를 7mTorr까지 낮춘다. ③ 입자 투입 후 시료를 동결건조기 사용 온도에 낮은 후 기기를 유지한 후 열풍을 'rest'에서 'dry'로 돌려 입자를 건조한다. ④ 건조가 완료된 후 열풍 건조기 기기의 열풍을 끈 후 입자를 제거하고, 냉각기를 끈 후 냉각이 끝나기까지 기다린다.</p> <p style="text-align: center;">- 3 -</p>	<h3>1-3. 파프리카 분말 입자 제조</h3> <p>1. 시범방법 요약 본 실험법은 건조된 파프리카를 분말입자로 사용하기 위해 분말 제조하는 방법이다.</p> <p>2. 장비와 재료 2.1. 장비 • 분쇄기(Food Miller) • 20 mesh 거름망(Standard No. 20 sieve)</p> <p>3. 방법 3.1. 분쇄 및 분말 • 건조된 파프리카 시료를 분쇄기로 분쇄하여 분말한다. 시료의 분쇄경도는 100 mesh Standard No. 20 mesh 정도를 분쇄한다. • 분쇄된 파프리카 시료는 작은 입자까지 거름망으로 걸러내어 분말과 거름을 구분하여 보관한다.</p> <p style="text-align: center;">- 4 -</p>														
<h3>2. 카로티노이드 추출법</h3> <h4>2-1. 일반 유기용매 추출법</h4> <p>1. 시범방법의 요약 본 추출법은 파프리카 건조시료를 이용하여 유기용매인 카로티노이드를 추출하는 실험법이다.</p> <p>2. 장비와 재료 2.1. 장비 및 소모품 • 저울 • Vortex • 배아병 (50mL Eppendorf) • 무수메탄올 (500mL) • 메스실린더 (500mL) • 고분자 필터 (10-4402P, Vision scientific Co. Ltd. Korea) • 원심분리기 (TS-5000N, Vision scientific Co. Ltd. Korea)</p> <p>2.2. 일반시약 • 아세톤 (Acetone, Extra grade)</p> <p>3. 방법 3.1. 추출 • 무수메탄올은 실험실용수준의 약 2g의 파프리카 건조시료를 칭량한 후, 아세톤 100mL을 첨가하여 혼합한다. 이하의 실험 조건을 참고하여 진행한다. • 시료를 아세톤 혼합액을 2분간 'vortex'한 후, 20°C 교반 배양기에서 2시간 동안 150 rpm 속도로 20°C로 교반하여 추출한다. • 교반이 완료된 후 아세톤 건조시료를 아세톤을 원심분리기에서 15분간 1500 rpm 속도로 4°C에서 원심분리하여 추출한다.</p> <p style="text-align: center;">- 5 -</p>	<h3>2-2. 가속용매추출장치(ASE)를 이용한 추출법</h3> <p>1. 시범방법의 요약 본 추출법은 파프리카 건조시료를 이용하여 가속용매추출장치(ASE)를 이용하여 시료 추출한다.</p> <p>2. 장비와 재료 2.1. 장비 및 소모품 • 저울 • Accelerated solvent extraction (ASE, Thermo Sci.) • 21mL ASE cell • Dimethylsulfoxide (DMSO) • 27mm filter(Glass fiber, celidose) • ASE-100-1000 Thimble • 질소충족장치 (TurboTap, Biotage) • N2 gas(질소충족) • Clear collection vial with septa</p> <p>2.2. 일반시약 • 아세톤 (Acetone, Extra grade)</p> <p>3. 방법 3.1. ASE 기기 준비 • 카로티노이드 추출을 위한 ASE 표준 조건은 다음과 같다. <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td>Flow rate</td><td>5mL/min</td></tr> <tr><td>Extraction temperature</td><td>100 °C</td></tr> <tr><td>Static time</td><td>5min</td></tr> <tr><td>Flush volume</td><td>60 % of cell volume</td></tr> <tr><td>Flush time</td><td>60 s</td></tr> <tr><td>Static cycles</td><td>3</td></tr> <tr><td>Pressure</td><td>1000psi</td></tr> </table> </p> <p>• ASE 기기 사용 전 용매에 추출용매인 아세톤을 채우고 N₂ gas를 연결한 후 15분 동안 질소 충전된 ASE cell에 채운다. • ASE를 21mL cell에 아세톤용액 27mm filter 2장을 넣은 후 ASE Thimble에 분쇄된 파프리카 시료 약 1g과 DMSO를 넣고 잘 혼합하여 ASE cell에 넣는다. • ASE를 작동시켜 100°C에서 5분 동안 static time을 설정하고 시료를 21mL cell에 넣은 후 static time을 설정하여 추출을 진행한다. • 추출이 끝난 후 collection vial into ASE. 파프리카 추출액을 질소충족장치(TurboTap)에 넣어 용매를 모두 날려 농축시켜 준비한다.</p> <p>3.2. ASE 추출법 실험 준비 • ASE용 21mL cell에 아세톤용액 27mm filter 2장을 넣은 후 ASE Thimble에 분쇄된 파프리카 시료 약 1g과 DMSO를 넣고 잘 혼합하여 ASE cell에 넣는다. • ASE를 작동시켜 100°C에서 5분 동안 static time을 설정하고 시료를 21mL cell에 넣은 후 static time을 설정하여 추출을 진행한다. • 추출이 끝난 후 collection vial into ASE. 파프리카 추출액을 질소충족장치(TurboTap)에 넣어 용매를 모두 날려 농축시켜 준비한다.</p> <p style="text-align: center;">- 6 -</p>	Flow rate	5mL/min	Extraction temperature	100 °C	Static time	5min	Flush volume	60 % of cell volume	Flush time	60 s	Static cycles	3	Pressure	1000psi	<h3>2-3. 파프리카 추출물의 정화법</h3> <p>1. 시범방법의 요약 본 추출법은 파프리카 추출액을 수산화칼륨으로 정화하여 지방산을 제거하여 순수 카로티노이드를 제조하는 방법이다.</p> <p>2. 장비와 재료 2.1. 장비 및 소모품 • 저울 • 입자수거 또는 • 배아병 • 분쇄기 • Vortex • 배아병 (50mL Eppendorf) • 무수메탄올 (500mL) • 메스실린더 (500mL) • 석회용 칼슘염 필터 및 디스크형 멤브레인 필터 (0.45um 또는 0.22um PVDF, Whatman, England) • filter paper (Whatman No. 1, England) • 주사기 (syringe) • 무수 메탄올 (Screw cap vial, 510-0714, Agilent) • 칼슘염 제거 (Rotaprep R-200, Buchi, Postfach, Switzerland) 또는 질소충족장치 (TurboTap, Biotage) • 0.45um 또는 0.22um PVDF syringe filter (Whatman, England)</p> <p>2.2. 일반시약 • 아세톤 (Acetone (U)HPLC grade) • 아세트산 (Acetic acid) (Daejeon, Extra grade) • 메탄올 (Methanol, Extra grade, HPLC grade) • 수산화칼륨 (Potassium hydroxide, KOH) • 염화나트륨 (Sodium chloride, NaCl)</p> <p>3. 방법 3.1. 시약제조 • 100m 수산화칼륨(100% 순도) 용액: 저울에 10g의 수산화칼륨을 칭량하여 100mL 용액에 100mL의 메탄올을 첨가하여 용액을 만든다. 용액을 100mL 용액에 100mL의 메탄올을 첨가하여 용액을 만든다. 용액을 100mL 용액에 100mL의 메탄올을 첨가하여 용액을 만든다.</p> <p style="text-align: center;">- 7 -</p>
Flow rate	5mL/min															
Extraction temperature	100 °C															
Static time	5min															
Flush volume	60 % of cell volume															
Flush time	60 s															
Static cycles	3															
Pressure	1000psi															

그림 29. 파프리카 유래 카로티노이드 분석을 위한 파프리카 전처리 및 카로티노이드 추출법 SOP

○ 적색 파프리카의 주 카로티노이드 성분인 캡산틴의 신속 추출법과 파프리카 유래 카로티노이드 동시분석에 관한 SOP를 HPLC와 UPLC 장비를 이용한 방법으로 작성하였다. 분석 관련 SOP에는 사용한 표준품의 구조식과 분자식 및 분자량 등을 자세히 담아 각 카로티노이드를 구분 할 수 있도록 기술하였다. 또한, 분석 관련 SOP에는 사용한 표준품의 구조식과 분자식 및 분자량 등을 자세히 담아 각 카로티노이드를 구분할 수 있도록 기술 하였다. 또한 분석 장비, 용매 등과 같은 분석 조건뿐만 아니라, 해당 분석 시 결과로 얻을 수 있는 크로마토그램 예 및 검량선, 계산방법을 포함하여 작성하였다(그림 30).

3. 캡산틴(적색파프리카) 신속 분석법

3-1. HPLC를 이용한 캡산틴 분석법

1. 시험방법의 요약
본 시험법은 C18 역상 컬럼을 장착하여 고속액체크로마토그래피 적색파프리카의 주요 색소 성분인 캡산틴을 분리하는 방법으로 자외부동광도검출기를 이용하여 캡산틴의 최대흡수파장인 450nm에서 검출하여 정량한다.

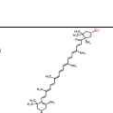
2. 장비와 재료
2.1. 실험실 장비 및 소모품

- 용매용 일회용 실험기
- 여과용 멤브레인 필터 및 디스크형 멤브레인 필터 (0.45μm)
- HPLC용 용리병
- 부피플라스크 (100mL)
- 초음파진탕기 (Sonicator)

2.2. 분석장비

- 고속액체크로마토그래피(HPLC, Jasco)
- 자외부동광도검출기 (UV Detector) 또는 다이오드어레이 검출기 (Diode Array Detector)
- 컬럼 오븐
- X-Terra™ C18 역상컬럼 (4.5mm i.d. × 250mm, 5μm) 또는 이와 동등한 것

2.3. 분석장비의 준비
85% 메탄올용액을 분당 1.5mL의 충분한 시간 동안 흘려서 기기와 컬럼을 안정화 시킨다.

3. 표준물질 및 일반사항
3.1. 표준물질
<표 3-1-1> 캡산틴의 특징 및 구조
Capсан틴
 ((3R,3',5'R)-3,3'-Dihydroxy-β-kappa-caroten-6'-one)
 ≒95.0% (HPLC), ChromaDex Co.
 • 분 자 식 : C₄₀H₅₆O₅
 • 분 자 량 : 584.87
 • CAS No. : 465-42-9


3.2. 일반사항

- 메탄올 (Methanol, (U/HPLC grade))
- 공복수 (Distilled water, 18MΩ)
- 아세톤 (Acetone, (U/HPLC grade))
- DMSO

- 10 -

3-2. UPLC를 이용한 캡산틴 분석법

1. 시험방법의 요약
본 시험법은 C18 역상 컬럼을 장착하여 초고속액체크로마토그래피 적색파프리카의 주요 색소 성분인 캡산틴을 신속분리하는 방법으로 자외부동광도검출기를 이용하여 캡산틴의 최대흡수파장인 450nm에서 검출하여 정량한다.


2. 장비와 재료
2.1. 실험실 장비 및 소모품

- 용매용 일회용 실험기
- UPLC용 용리병
- 부피플라스크 (100mL)
- 초음파진탕기 (Sonicator)

2.2. 분석장비

- Acquity UPLC BEH C18 (2.1×50mm, 1.8μm) 또는 이와 동등한 것
- 자외부동광도검출기 (UV Detector) 또는 다이오드어레이 검출기 (Diode Array Detector)
- 컬럼 오븐
- Acquity UPLC BEH C18 (2.1×50mm, 1.8μm) 또는 이와 동등한 것

2.3. 분석장비의 준비
메탄올과 공복수를 85:15의 비율로 분당 0.5mL의 충분한 시간 동안 흘려서 기기와 컬럼을 안정화 시킨다.

3. 표준물질 및 일반사항
3.1. 표준물질
<표 3-2-1> 캡산틴의 특징 및 구조
Capсан틴
 ((3R,3',5'R)-3,3'-Dihydroxy-β-kappa-caroten-6'-one)
 ≒95.0% (HPLC), ChromaDex Co.
 • 분 자 식 : C₄₀H₅₆O₅
 • 분 자 량 : 584.87
 • CAS No. : 465-42-9


3.2. 일반사항

- 메탄올 (Methanol, (U/HPLC grade))
- 공복수 (Distilled water, 18MΩ)
- 아세톤 (Acetone, (U/HPLC grade))
- DMSO

- 13 -

4. 파프리카 유래 카로티노이드 동시 분석

4-1. HPLC를 이용한 카로티노이드 9종 분석법

1. 시험방법의 요약
본 시험법은 C18 역상 컬럼을 장착하여 고속액체크로마토그래피 9종의 카로티노이드를 분리하는 방법으로 자외부동광도검출기를 이용하여 카로티노이드의 최대흡수파장인 450nm에서 검출하여 정량한다.


2. 장비와 재료
2.1. 실험실 장비 및 소모품

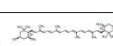
- 용매용 일회용 실험기
- 여과용 멤브레인 필터 및 디스크형 멤브레인 필터 (0.45μm)
- HPLC용 용리병
- 부피플라스크 (100mL)
- 초음파진탕기 (Sonicator)

2.2. 분석장비

- 고속액체크로마토그래피(HPLC, Jasco)
- 자외부동광도검출기 (UV Detector) 또는 다이오드어레이 검출기 (Diode Array Detector)
- 컬럼 오븐
- X-Terra™ C18 역상컬럼 (4.5mm i.d. × 250mm, 5μm) 또는 이와 동등한 것

2.3. 분석장비의 준비
85% 메탄올용액을 분당 1.5mL의 충분한 시간 동안 흘려서 기기와 컬럼을 안정화 시킨다.

3. 표준물질 및 일반사항
3.1. 표준물질
<표 4-1-1> 카로티노이드의 특징 및 구조
Capsorubin
 ((3S,5R,3',5'R)-3,3'-Dihydroxy-β-kappa-carotene-6,6'-dione)
 ≒95.0% (HPLC), ChromaDex Co.
 • 분 자 식 : C₄₀H₅₆O₆
 • 분 자 량 : 600.27
 • CAS No. : 470-38-2


Violaxanthin
 ((3S,3',5'R,5'R,6,6',6'')-5,5',6,6'-Tetrahydro-β,ε,ε,ε'-


- 16 -

4-2. UPLC를 이용한 카로티노이드 12종 분석법

1. 시험방법의 요약
본 시험법은 C18 역상 컬럼을 장착하여 초고속액체크로마토그래피 12종의 카로티노이드를 분리하는 방법으로 자외부동광도검출기를 이용하여 카로티노이드의 최대흡수파장인 450nm에서 검출하여 정량한다.


2. 장비와 재료
2.1. 실험실 장비 및 소모품

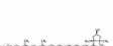
- 용매용 일회용 실험기
- UPLC용 용리병
- 부피플라스크 (100mL)
- 초음파진탕기 (Sonicator)

2.2. 분석장비

- 초고속액체크로마토그래피(Acquity UPLC H-Class, Waters)
- 자외부동광도검출기 (UV Detector) 또는 다이오드어레이 검출기 (Diode Array Detector)
- 컬럼 오븐
- Acquity UPLC HSS T3 (2.1×50mm, 1.8μm) 또는 이와 동등한 것

2.3. 분석장비의 준비
아세트닐/메탄올/에틸렌글리콜(85/25/10, v/v/v) 혼합용액과 물을 70:30의 비율로 분당 0.5mL의 충분한 시간 동안 흘려서 기기와 컬럼을 안정화 시킨다.

3. 표준물질 및 일반사항
3.1. 표준물질
<표 4-2-1> 카로티노이드의 특징 및 구조
Neoxanthin
 ((3S,3',5R,5'R,6',6'')-6,7-Didehydro-5,5',6,6'-tetrahydro-3',6'-epoxy-β,β-carotene-3,3',3'-triol)
 ≒95.0% (HPLC), ChromaDex Co.
 • 분 자 식 : C₄₀H₅₆O₇
 • 분 자 량 : 600.27
 • CAS No. : 14860-91-4


Capsorubin
 ((3S,5R,3',5'R)-3,3'-Dihydroxy-β-kappa-carotene-6,6'-dione)
 ≒95.0% (HPLC), ChromaDex Co.
 • 분 자 식 : C₄₀H₅₆O₆
 • 분 자 량 : 600.27
 • CAS No. : 470-38-2


- 21 -

그림 30. 파프리카 유래 카로티노이드 분석SOP-캡산틴 신속분석법 및 파프리카 유래 카로티노이드 동시분석 SOP

○ 파프리카의 관능평가를 위한 패널을 선정하는 기준과 패널 훈련 방법에 대한 SOP, 파프리카 관능평가를 위한 관능평가 sheet 개발 SOP, 관능평가용 파프리카의 시료 준비 방법 및 패널에게 제시방법에 대한 SOP, 관능평가결과 통계처리법에 대해 기술하였으며, 그 내용은 그림 31과 같다.

제 4 절 파프리카잎 유래 루테인의 추출 분리 및 분석 조건 검증

1. 유효성분의 정성, 정량분석 조건 설정

- 파프리카 잎의 주요 카로티노이드인 루테인을 정성 및 정량분석을 위하여 분석시간이 짧은 BEH 컬럼을 이용하여 루테인 신속 분석법 개발하였다. 루테인 분석을 위한 UPLC 방법은 표 28와 같이 수행하였으며, 실험결과 그림 32와 같이 루테인 피크 검출시간은 6.37분으로 짧은 시간 내에 분석이 가능한 조건을 확립하였다.

표 28. 루테인 분석을 위한 UPLC 조건

Instrument	ACQUITY UPLC H-Class (Waters)
Solvent	(A)methanol (B)water = 80 : 20 (v : v)
Flow rate	0.5 mL/min
UV wavelength	470 nm
Column	Acquity UPLC BEH C18 (2.1×50mm, 1.8um)
Oven temperature	40 °C
Injection volume	1.0μL

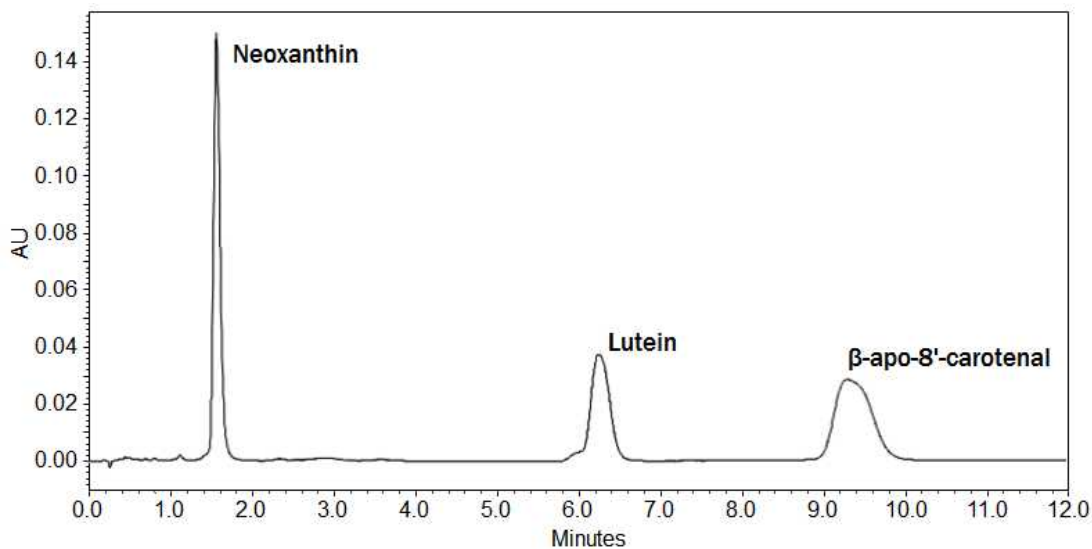


그림 32. 네오잔틴과 루테인의 표준품 크로마토그램

- 루테인의 신속 정량을 위한 분석법 검증을 위하여 루테인과 내부표준물질로 β-apo-8'-carotenal을 이용하였으며 DMSO를 blank로 하여 UPLC로 확인 후 두 물질 모두 DMSO를 이용하여 제조하였다. 루테인은 0.5~200 μg/mL 범위 내에서 14가지 농도로 표준 용액을 만들었으며, 내부 표준물질은 50 μg/mL이 되게 첨가하여 검량선용 표준시료를 만들어 직선성, 일간 정밀도, 일내 정밀도를 UPLC로 분석하여 검출한계(LOD), 정량한계(LOQ), 정밀도, 정확도를 산출하여 검증을 수행하였다.
- 루테인의 검출한계, 정량한계, 직선성의 결과는 표 29와 같으며 루테인 검량선의 직선성을 위한 회귀식은 $y=5909.8x-5959.9$ 이며, 상관계수(r^2)는 0.9989로 표 28과 같은 분석조건 하에

서 높은 직선성을 나타내었으며, 직선성을 나타내는 범위 내에서 루테인의 검출한계 1.2 μ g/mL, 정량한계 3.7 μ g/mL의 수준을 나타내어 루테인을 분석할 수 있는 충분한 감도와 직선성을 가지고 있는 것을 확인하였다.

표 29. 루테인의 검출한계, 정량한계, 직선성 결과

	Lutein
LOD (μ g/mL)	1.2
LOQ (μ g/mL)	3.7
Calibration equation (y=Ax+B)	
Slope (A)	5909.8
Intercept (B)	-5959.9
Correlation coefficient (r^2)	0.9989

- 루테인 분석법의 일간, 일내 정확도, 정밀도 회수율 결과는 표 30과 같다. 루테인의 일간 RSD는 0.31~2.78%, 일내 RSD는 1.18~2.528.07%이었으며, 이에 해당하는 회수율은 98.97~103.06%로 나타나 개발된 분석방법이 루테인의 정량분석이 가능한 재현성을 가지고 있다는 것을 확인하였다.

표 30. 루테인 분석법의 일간, 일내 정확도, 정밀도, 회수율 결과

Analyte	Concentration (μ g/mL)	Intra day (n=3)		Inter day (n=3)	
		Recovery (%)	RSD(%)	Recovery (%)	RSD(%)
Lutein	10	102.15	2.29	99.90	2.78
	25	103.06	1.18	101.51	0.31
	100	98.97	2.52	99.76	2.67

2. 유효성분의 추출조건 설정 : 반응표면분석법(Response surface material, RSM)을 이용한 루테인 최적 추출 조건 설정

- 파프리카 잎의 주 카로티노이드인 루테인 추출을 위한 가압용매장치(ASE)의 최적 조건을 찾기 위해 반응표면분석법(Response surface materila, RSM)을 수행하였다. 반응표면분석법 중 예측분산이 일정하고, 이상적 속성을 제공하여 향상된 예측의 질을 갖는 최적 조건을 선정할 수 있어 이차 모형의 실험계획법으로 널리 사용되는 방법인 중심합성계획법(Central Composite Design, CCD) 법을 이용하였으며, 실험요인은 표 31과 같이 ASE 온도(X_1 , 60~180 $^{\circ}$ C), ASE static time(X_2 , 1~5 min), ASE 추출용매(X_3 , 60~100%(물 대비 에탄올 농도))이며, 이 세 가지 요인변수를 -1.682, -1, 0, 1, 1.682의 5단계로 부호화하였다.

표 31. 파프리카 잎에서 루테인 최적 추출법 선정을 위한 중심합성계획법

Variables	coded Xi	coded level				
		-1.682	-1	0	1	1.682
Temperature (°C)	X1	60	90	120	150	180
Static Time (min)	X2	1	2	3	4	5
Solvent (%)	X3	60% EtOH	70% EtOH	80% EtOH	90% EtOH	100% EtOH

- 중심합성계획법에 따른 시료의 ASE 추출이 끝난 후 collection vial에 수집된 용매를 TurboVap LV(Biotage, Uppsala, Sweden)를 이용하여 25°C 수욕 상에서 N₂ 가스로 농축하여 3 mL로 정용한 후 30% KOH/MeOH 1 mL와 methanol 3mL을 혼합하여 빛을 차단한 채 2시간 30분 동안 검화 반응을 수행하였다. 반응액에 20mL의 증류수를 첨가하고 디에틸에테르 20mL을 첨가하여 추출한 후 10% 염화나트륨 10mL을 첨가하였다. 충분히 방치하여 층 분리를 시킨 후 상층액을 회수하였다. 하층액에 2% 황산나트륨을 첨가하여 잔존하는 디에틸에테르를 회수하고 3회에 걸쳐 회수한 디에틸에테르 분획을 혼합하였다. 20분 후 분리되는 하층을 제거하고 회수된 디에틸에테르는 감압 농축한 후 남은 잔여물을 아세톤 3mL에 녹여 MILLEX-HV 0.22µm PTEF syringe filter(Millipore Corp. Bedford, MA, USA)로 여과한 후 분석에 사용하였다. UPLC를 이용하여 상기의 신속정량정성 분석법을 이용해 분석을 수행하였다.
- UPLC를 이용하여 분석법 검증이 완료된 상기의 루테인 신속 분석법으로 측정하여 정성 및 정량분석을 하였으며, 파프리카 잎 추출물의 루테인 검출 크로마토그램은 그림 33과 같다.

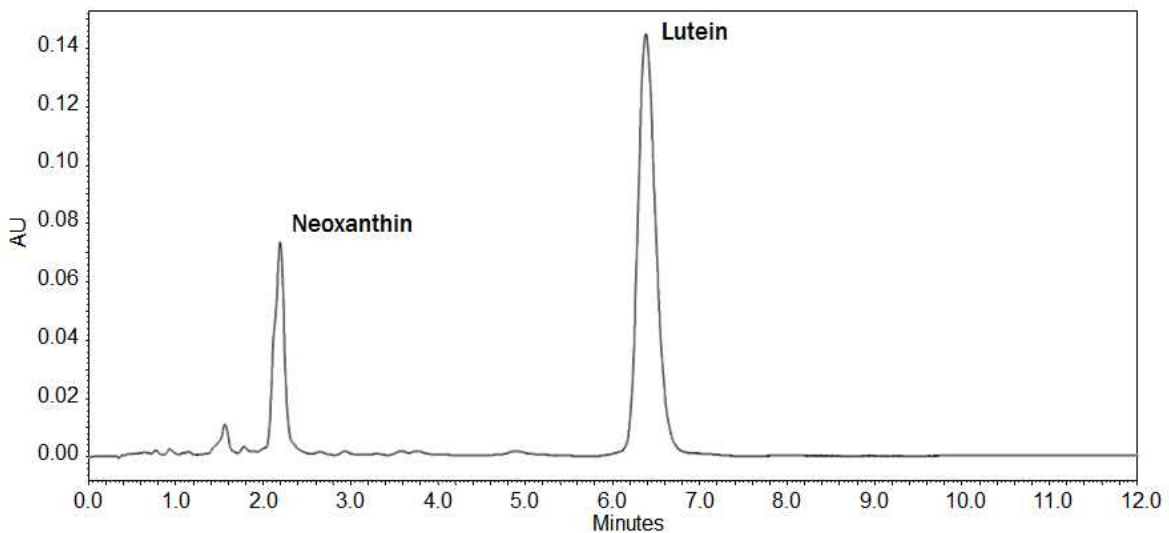


그림 33. 파프리카 잎 추출물의 크로마토그램

- 중심합성계획법의 각 설계 변수에 따른 실험값인 루테인 함량은 표 32와 같다. 20개의 추출 조건을 이용하여 무작위로 순서를 정하여 3반복 실험하였으며, ASE 추출 조건인 각 변수에 영향을 받는 종속변수(Y)는 루테인 함량을 나타내며, 건조 중량을 기준으로 그 함량을

나타내었다. 실험 결과 설계 변수 중 12번인 추출 온도 120°C, Static time 5 min, 추출용매 80% 에탄올에서 루테인 함량이 286.79±26.22 µg/g으로 가장 높았다.

표 32. 중심합성계획법의 코드 단위 설계변수와 실험값

Order	Temperature (°C, X ₁)	Static time (min, X ₂)	EtOH concentration (% , X ₃)	Lutein (µg/g dw)
1	90(-1)	2(-1)	70(-1)	26.35±3.13
2	150(1)	2(-1)	70(-1)	29.25±7.61
3	90(-1)	4(1)	70(-1)	103.63±1.73
4	150(1)	4(1)	70(-1)	61.79±4.92
5	90(-1)	2(-1)	90(1)	69.58±5.88
6	150(1)	2(-1)	90(1)	185.19±30.25
7	90(-1)	4(1)	90(1)	116.67±12.03
8	150(1)	4(1)	90(1)	92.34±5.21
9	60(-1.682)	3(0)	80(0)	134.38±12.82
10	180(1.682)	3(0)	80(0)	27.13±0.96
11	120(0)	1(-1.682)	80(0)	148.71±5.30
12	120(0)	5(1.682)	80(0)	286.79±26.22
13	120(0)	3(0)	60(-1.682)	14.80±2.98
14	120(0)	3(0)	100(1.682)	220.01±13.52
15	120(0)	3(0)	80(0)	172.76±2.96
16	120(0)	3(0)	80(0)	181.65±3.51
17	120(0)	3(0)	80(0)	178.66±3.85
18	120(0)	3(0)	80(0)	176.99±12.10
19	120(0)	3(0)	80(0)	176.45±5.00
20	120(0)	3(0)	80(0)	181.50±2.06

○ RSM 예측값은 Minitab 14(Minitab Inc. PA USA)를 이용하여 독립변수 X와 종속변수 Y에 대하여 표 33과 같은 예측방정식을 얻을 수 있었다. 루테인 최적 추출 조건에 대한 예측방정식은 상관계수(R²)는 0.9518, 유의성은 p=0.000으로 통계적으로 유의한 예측방정식을 얻을 수 있었다.

표 33. 파프리카 잎에서 루테인 최적 추출법 선정을 위한 중심합성계획법

Compound	Second order polynomials ¹⁾	R ²	P value
Lutein	$Y_{yl} = 179.636 - 9.37585X_1 + 21.6952X_2 + 43.0471X_3 - 45.0687X_1^2 + 3.36455X_2^2 - 32.1116X_3^2 - 23.0858X_1X_2 + 16.2767X_1X_3 - 19.4483X_2X_3$	0.9518	0.000

¹⁾ Y_{yl}, lutein extraction of paprika leaves (ug/g); X, temperature(°C); X₂, static time(min); X₃, solvent (EtOH %)

- 파프리카 잎의 루테인 추출을 반응표면 분석한 예측 방정식에 대한 회귀와 잔차의 analysis of variance(ANOVA) 분석한 결과와 예측된 2차 반응표면식의 적합성 평가에 대한 통계적 수치는 표 34와 같으며, 회귀에 대한 ANOVA 분석에서 선형적, 이차적 영향이 유의적으로 나타나고 상호적 영향도 있는 것으로 나타났다.

표 34. 반응표면분석 결과의 회귀와 잔차에 대한 ANOVA 분석결과 및 예측된 2차 반응표면식의 적합성 평가

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F value	P value
Regression	9	252902	252902	28100.3	20.65	0.000
linear	3	98806	98806	32935.4	24.21	0.000
square	3	125869	125869	41956.4	30.84	0.000
interaction	3	28227	28227	9409	6.92	0.001
Residual error	50	68028	68028	1360.6		
lack-of-fit	5	62857	62857	12571.4	109.4	0.000
pure error	45	5171	5171	114.9		
Total	59	320931				

- 독립변수의 이차적 영향은 적용된 조작변수들, 추출시간과 온도, 용매의 농도 모두 종속 변수에 대해 양과 음의 상관관계 모두 보일 수 있음을 의미하며, 각 조작 변수들이 차지하는 영향을 표 35를 통해 확인한 결과, static time($X_2 \times X_2$)계수는 유의성을 나타내지 않았다.

표 35. 예측된 2차방정식의 회귀계수

Parameter	Coefficient	SE Coef	Tvalue	P value
Linear	18.09***	8.686	20.682	0.000
X_1	2.48***	5.763	-1.627	0.110
X_2	0.68 ^{NS}	5.763	3.765	0.000
X_3	0.85*	5.763	7.470	0.000
$X_1 \times X_1$	-1.18*	5.610	-8.034	0.000
$X_2 \times X_2$	2.05***	5.610	0.600	0.551
$X_3 \times X_3$	1.86**	5.610	-5.724	0.000
$X_1 \times X_2$	-1.39**	7.529	-3.066	0.003
$X_1 \times X_3$	-1.93***	7.529	2.162	0.035
$X_2 \times X_3$	-2.45***	7.529	-2.583	0.013
S= 36.89	R-Sq= 78.8%		R-Sq(adi)=75.0%	

- 중심합성계획법의 각 실험변수에 따른 루테인 추출함량에 대한 그래프는 그림 34와 같이 등고선그림과 3차원 반응표면그림으로 확인하였다.

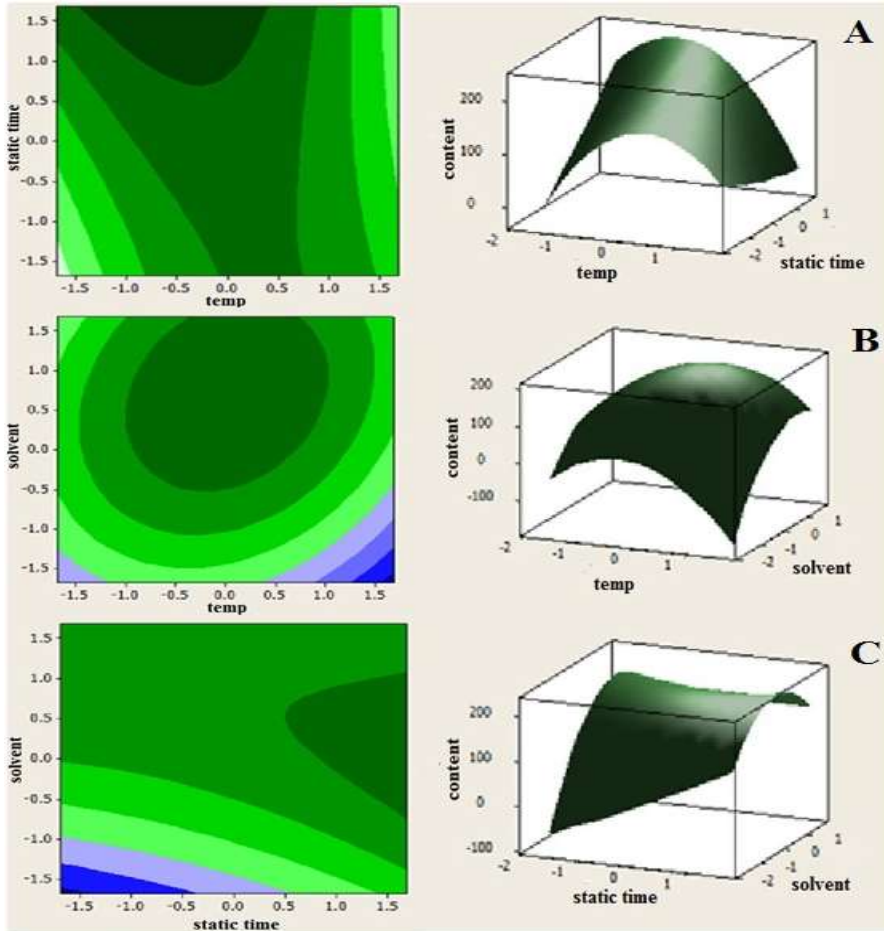


그림 34. 등고선과 3차원 반응표면으로 나타난 중심합성계획법 코드에 따른 루테인 함량 변화. (A) 추출온도와 Static time, (B) 추출온도와 추출용매, (C) Static time과 추출용매

○ RSM 분석을 통해 찾아낸 파프리카 잎으로부터 루테인의 최적추출조건을 Minitab 예측 그래프로 나타내면 그림 35와 같다. 각 설계 변수에 따른 최적 추출 조건은 ASE 추출 온도 (X_1) 93.26°C, ASE static time(X_2) 5분, ASE 추출 용매(X_3) 79.63% 에탄올로 확인되었으며, 이때 예측되는 루테인 추출 함량은 232.6021 $\mu\text{g/g}$ d.w.로 확인되었다(표 36).

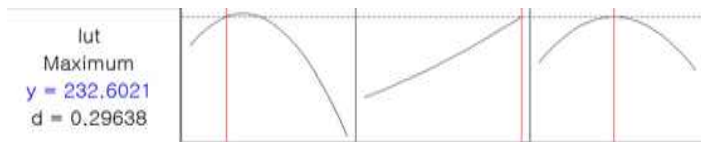


그림 35. 적색파프리카에서 캡산틴 추출을 위한 ASE 최적 조건 예측값

표 36. 반응표면분석법을 이용한 파프리카 잎에서 루테인 최적 추출 조건 및 예측값

Responses	Temperature (°C)	Static time (min)	EtOH concentration (%)	Estimated response ($\mu\text{g/g}$ dw)
Lutein	93.26	5	79.63	232.6021

제 5 절 파프리카 신품종의 카로티노이드 분석 지원

1. 파프리카 시료

- 카로티노이드 표준분석법을 검증한 후 협력기관에서 육성중인 신품종에의 적용을 위해 농업기술원과 종묘회사로부터 시료를 제공받아 분석지원을 실시하였다. 농우바이오에서는 적색 3종, 노랑 3종, 삼성종묘로부터 적색 8종, 주황 4종, 노랑 10종으로 총 28종을 제공받아 표준분석법 검증 및 신품종에의 적용 지원 연구를 수행하였다. 4차년도에는 경남농업기술원과 농협에서 색상별(적색 30종, 주황 9종, 노랑 17종, 연한노랑 6종, 진한노랑 6종, 보라 1종), 농산무역의 보라(마브리스), 갈색(브라우니), 흰색(비앙카) 각 1종씩 총 72종의 파프리카를 제공 또는 구입하여 확립된 카로티노이드 분리 분석 조건에 적용하여 분석지원을 수행하였고 보라색, 갈색, 흰색의 경우 확립된 카로티노이드 분리 분석 조건에 적용하여 카로티노이드프로파일의 비교 연구에 사용하였다.

표 37. 파프리카 색상 및 품종

입고처	색상	이름 및 품종	입고처	색상	이름 및 품종				
농우바이오	적색	9591	삼성종묘	적색	SW-901	SW-909			
		9589			SW-902	SW-922			
		Nagano			SW-907	SW-923			
	노랑	9695			SW-908	SW-928			
		9707			주황	SW-905	SW-926		
Fidero		SW-921				SW-929			
							노랑	SW-903	SW-919
								SW-904	SW-920
								SW-910	SW-924
								SW-911	SW-925
			SW-918	SW-927					

표 38. 파프리카 색상 및 품종

입고처	색상	이름 및 품종		입고처	색상	이름 및 품종				
경남농업 기술원	적색	NHR1	Reang	경남농업 기술원	노랑	HAY1	NHY7			
		NHR2	RaonR			GHY1	KKY4			
		NHR3	RPlus			NWY1	SY7			
		NHR31	GoggalR			NWY2	SY8			
		SR2	RDGlory			NWY3	RaonY			
		SR4	Acrobat			JBY1	Yanthi			
		SR6	Nagano			NHY5	GoggalY			
		JBR1	98x21			NHY6	WYGlory			
		JBR2	3016x3128			보라	Coletti			
		JBR3	3016x3134			농산무역	보라	마브리스		
		NWR1	3074x3021			갈색	브라우니			
		NWR2	3074x3034			흰색	비앙카			
		HAR1	3074x3134			농협	진노랑	2318		
		KKR1	Scirocco				연노랑	2471		
		GHR1	SWR314					2497		
		주 황				GHO1	Orange Smart			2094
						SO1	OEGlory			2469
						Mazzona	GoggalO			2248
						SWO317	Oranos			
						RaonO				

- 농우바이오와 삼성종묘에서 제공받은 색상별, 품종별 블로키 타입 파프리카에서 카로티노이드 함량을 정량적으로 분석하였다. 카로티노이드 12종 분석을 위한 UPLC 조건은 표 39와 같다. 카로티노이드 12종 동시분석 조건의 크로마토그램은 그림 36과 같으며 분리된 카로티노이드 표준품 12종의 머무름 시간은 네오잔틴 3.941분, 캡소루빈 4.843분, 비올라잔틴 6.168분, 캡산틴 8.518분, 앤서잔틴 9.265분, 제아잔틴 14.395분, 루테인 15.675분, 알파-크립토잔틴 20.563분, 베타-크립토잔틴 20.690분, 리코펜 22.346분, 알파-카로틴 24.610분, 베타-카로틴 25.026분으로 나타났다.

표 39. 카로티노이드 12종 분석을 위한 UPLC 조건

Instrument	ACQUITY UPLC H-Class (Waters)
Solvent	(A)Acetonitrile/Methanol/Dichloromethane(65/25/10, v/v/v) (B)D.W
Gradient system	0min 70% A - 6.5min 70% A - 7min 75% A - 11min 75% A - 11.5min 70% A - 17min 70% A - 17.5min 100% A - 27.5min 100% A - 28min 70% A - 30min 70% A
Flow rate	0.5 mL/min
UV wavelength	450 nm
Column	Acquity UPLC HSS T3 (2.1×50mm, 1.8um)
Oven temperature	35 °C
Injection volume	1.0μL

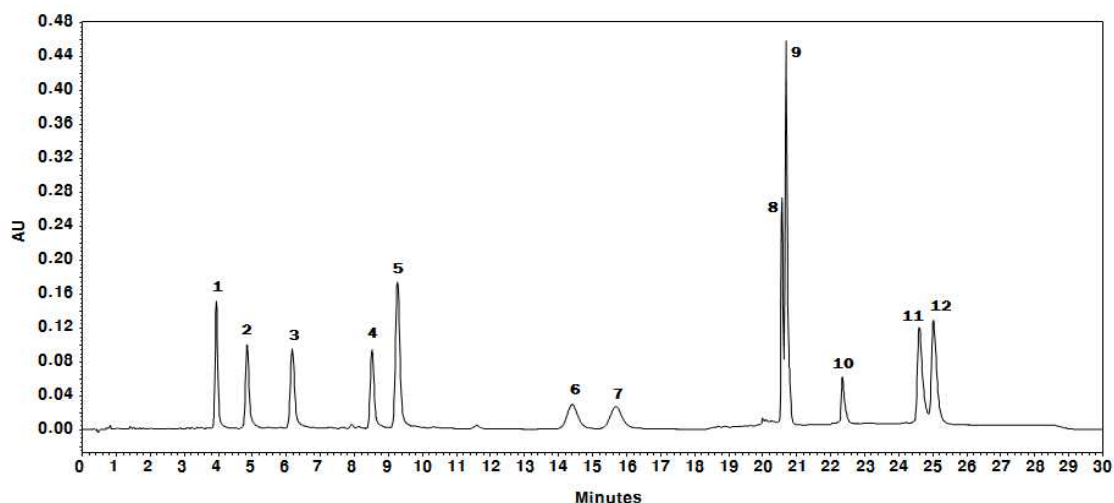


그림 36. 카로티노이드 표준품 12종 크로마토그램 1, neoxanthin; 2, capsorubin; 3, violaxanthin; 4, capsanthin; 5, antheraxanthin; 6, zeaxanthin; 7, lutein; 8, α -cryptoxanthin; 9, β -cryptoxanthin; 10, lycopene; 11, α -carotene; 12, β -carotene

- 농우바이오에서 제공받은 적색, 노란색 파프리카의 카로티노이드 분석을 수행한 결과 적색과에서는 캡소루빈, 캡산틴, 베타-크립토잔틴, 베타-카로틴이 공통으로 검출되었으며(그림 37), 노란색과에는 네오잔틴, 제아잔틴, 루테인, 알파-크립토잔틴, 베타-크립토잔틴, 알파-카로틴, 베타-카로틴이 공통으로 검출되었다(그림 38).

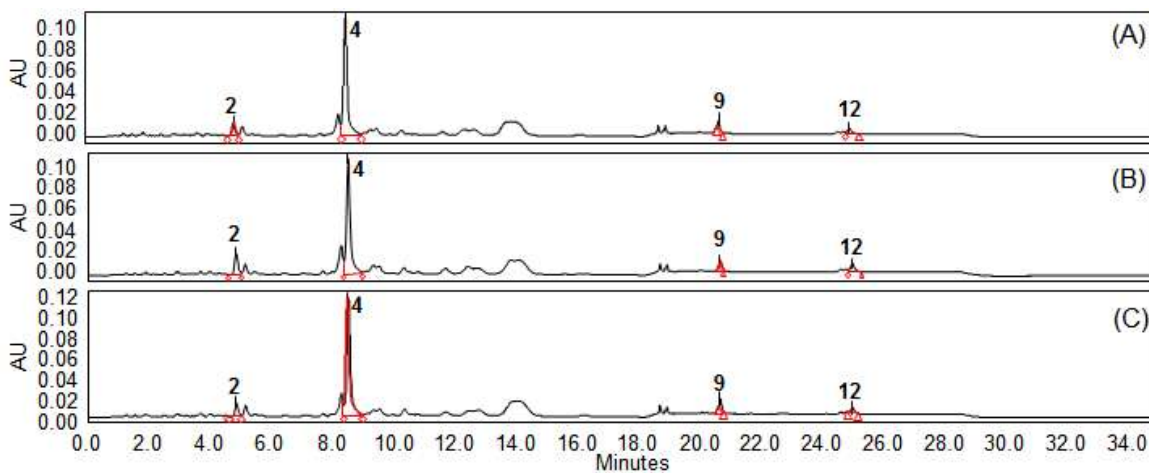


그림 37. 적색 파프리카의 카로티노이드 크로마토그램(농우바이오). 나가노(A), 9591(B), 9589(C). 2, capsorubin; 4, capsanthin; 9, β -cryptoxanthin; 12, β -carotene

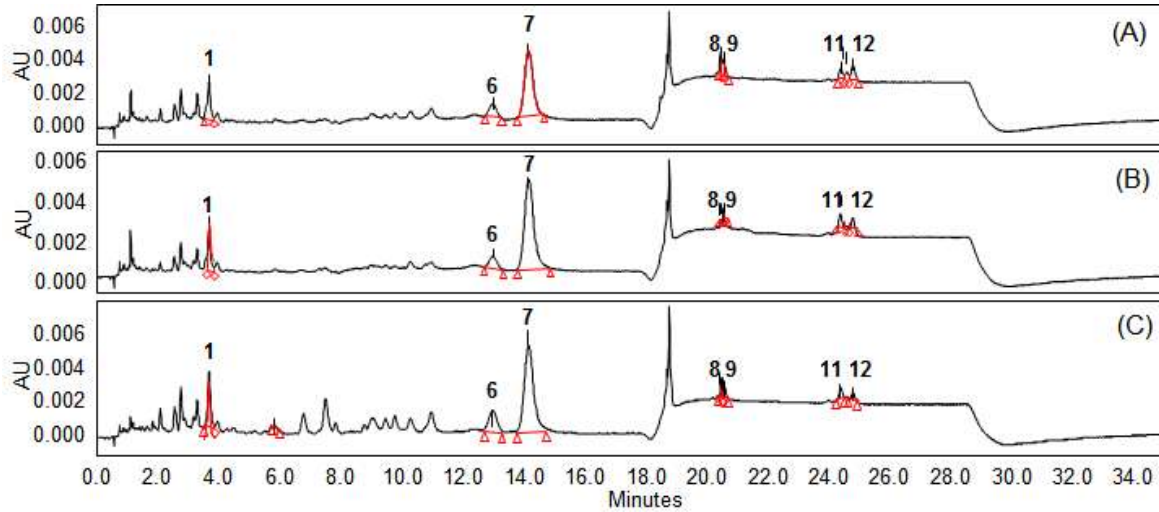


그림 38. 노란색 파프리카의 카로티노이드 크로마토그램(농우바이오). 피테로(A), 9695(B), 9707(C). 1, neoxanthin; 6, zeaxanthin; 7, lutein; 8, α -cryptoxanthin; 9, β -cryptoxanthin; 11, α -carotene; 12, β -carotene

- 농우바이오에서 제공받은 시료의 카로티노이드 분석 결과는 표 40과 같다. 적색 파프리카 품종의 주 카로티노이드는 캡산틴으로 $7.05 \pm 0.24 \sim 8.76 \pm 1.20$ mg/100g d.w.가 함유되어 있었으며, 노란색 파프리카 품종의 주 카로티노이드는 루테인으로 $2.81 \pm 0.39 \sim 3.66 \pm 0.03$ mg/100g d.w.가 함유되어 있었다. 농우바이오에서 제공받은 적색 파프리카 중 '9589' 시료의 총 카로티노이드 함량이 9.80 ± 1.33 mg/100g d.w.으로 가장 높았으며, 노란색 파프리카 중 '9707' 시료의 총 카로티노이드 함량이 5.27 ± 0.07 mg/100g d.w.으로 가장 높았다.

표 40. 색상별 파프리카의 카로티노이드 함량 (농우바이오)

(mg/100g of dry weight)

색상	품종	Neoxanthin	Capsorubin	Violaxanthin	Capsanthin	Zeaxanthin	Lutein	α-Cryptoxanthin	β-Cryptoxanthin	α-Carotene	β-Carotene	Total carotenoids
적색	나가노	-	0.61±0.050	-	7.05±0.24	-	-	-	0.24±0.01	-	0.13±0.00	8.03±0.28
	9591	-	1.00±0.09	-	6.51±0.38	-	-	-	0.05±0.00	-	0.15±0.02	7.71±0.47
	9589	-	0.83±0.12	-	8.76±1.20	-	-	-	0.09±0.01	-	0.12±0.01	9.80±1.33
노랑	피테로	0.29±0.04	-	-	-	0.70±0.02	2.81±0.39	0.07±0.00	0.03±0.00	0.12±0.00	0.06±0.00	4.08±0.42
	9695	0.25±0.01	-	-	-	0.62±0.04	2.95±0.20	0.05±0.00	0.02±0.00	0.12±0.01	0.05±0.01	4.05±0.23
	9707	0.41±0.00	-	-	-	0.89±0.03	3.66±0.03	0.06±0.01	0.03±0.00	0.11±0.02	0.05±0.01	5.27±0.07

* Antheraxanthin은 검출되지 않음

- 삼성종묘에서 제공받은 적색, 주황색 노란색 파프리카의 카로티노이드 분석을 수행한 결과 적색과에서는 캡소루빈, 캡산틴, 베타-크립토잔틴, 베타-카로틴이 공통으로 검출되었으며(그림 39, 40), 주황색과에서는 네오잔틴, 비올라잔틴, 앤서잔틴, 제아잔틴, 루테인, 알파-크립토잔틴, 베타-크립토잔틴, 알파-카로틴, 베타-카로틴이 공통으로 검출되었다(그림 41). 노란색과에는 네오잔틴, 비올라잔틴, 제아잔틴, 루테인, 알파-크립토잔틴, 베타-크립토잔틴, 알파-카로틴, 베타-카로틴이 공통으로 검출되었으며, 앤서잔틴의 검출은 노란색 파프리카의 품종에 따라 검출 및 함량에 차이가 나타났다(그림 42, 43).

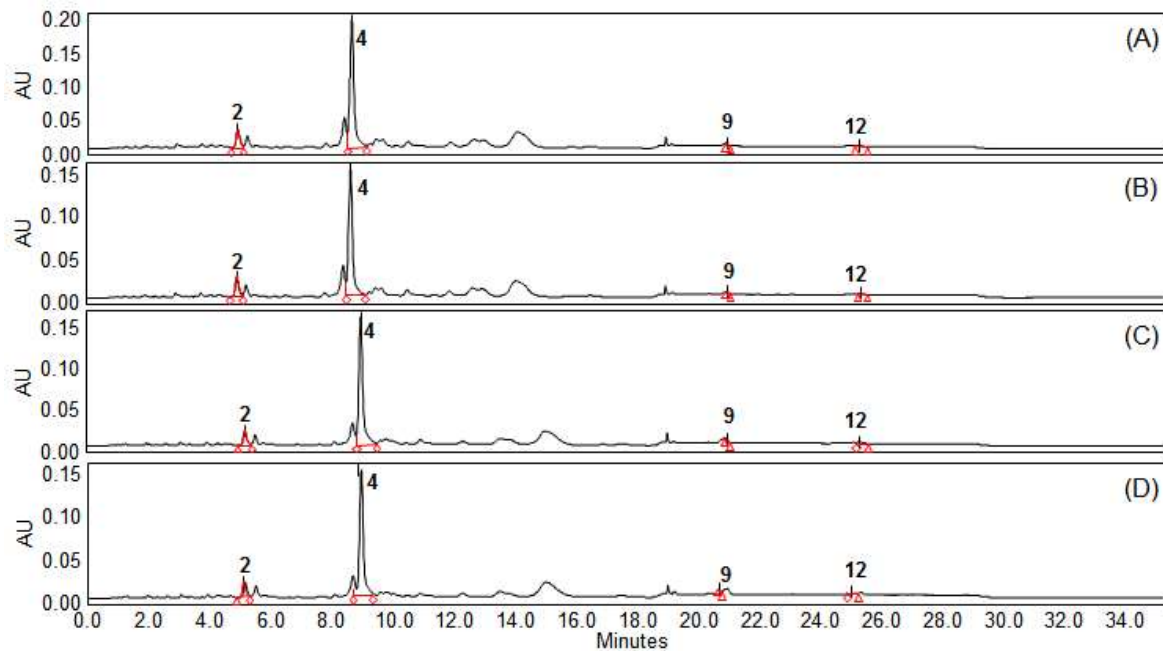


그림 39. 적색 파프리카의 카로티노이드 크로마토그램(삼성종묘). SW-901(A), SW-902(B), SW-907(C), SW-908(D). 2, capsorubin; 4, capsanthin; 9, β -cryptoxanthin; 12, β -carotene

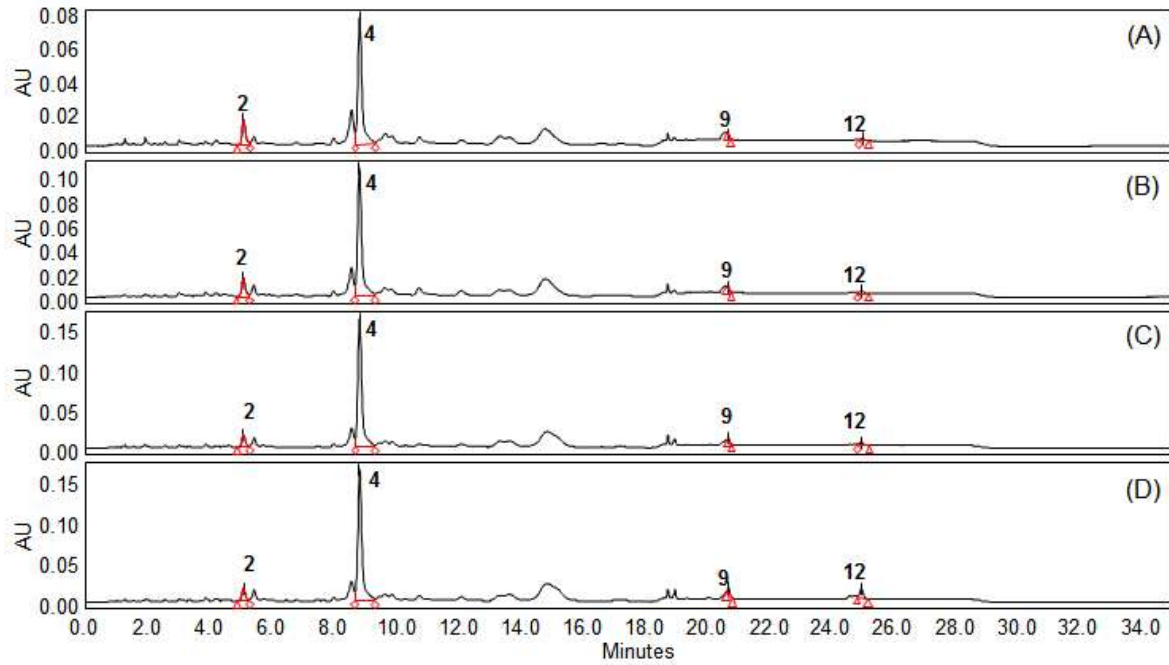


그림 40. 적색 파프리카의 카로티노이드 크로마토그램(삼성종묘). SW-909(A), SW-922(B), SW-923(C), SW-928(D). 2, capsorubin; 4, capsanthin; 9, β -cryptoxanthin; 12, β -carotene

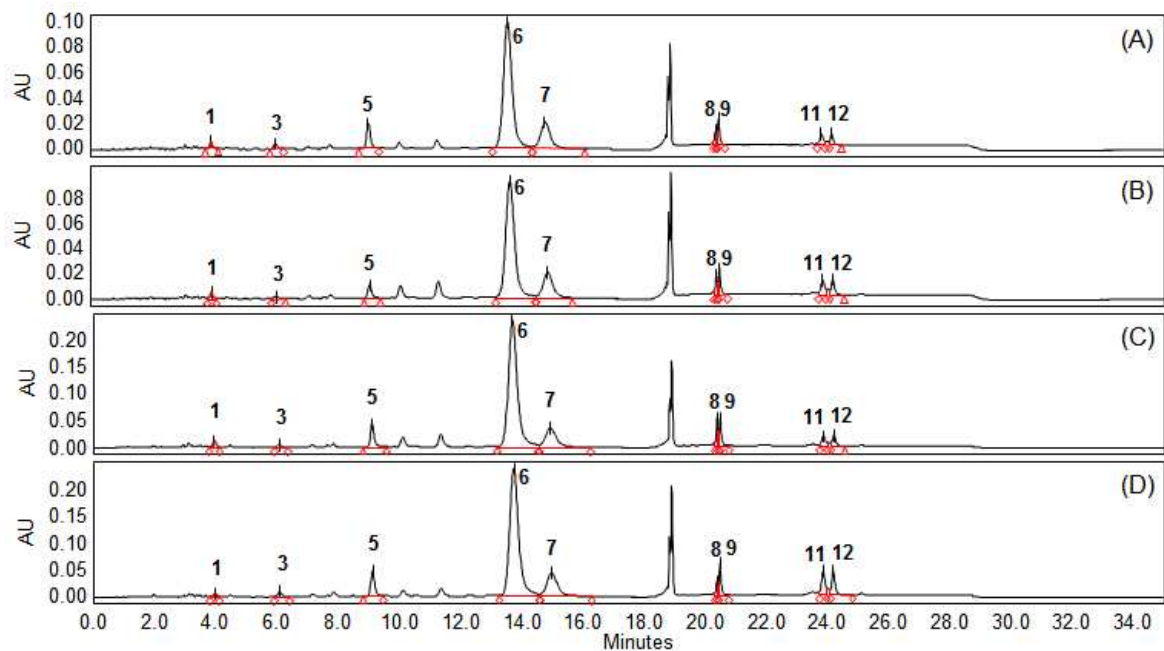


그림 41. 주황색 파프리카의 카로티노이드 크로마토그램(삼성종묘). SW-905(A), SW-921(B), SW-926(C), SW-929(D). 1, neoxanthin; 3, violaxanthin; 5, antheraxanthin; 6, zeaxanthin; 7, lutein; 8, α -cryptoxanthin; 9, β -cryptoxanthin; 11, α -carotene; 12, β -carotene

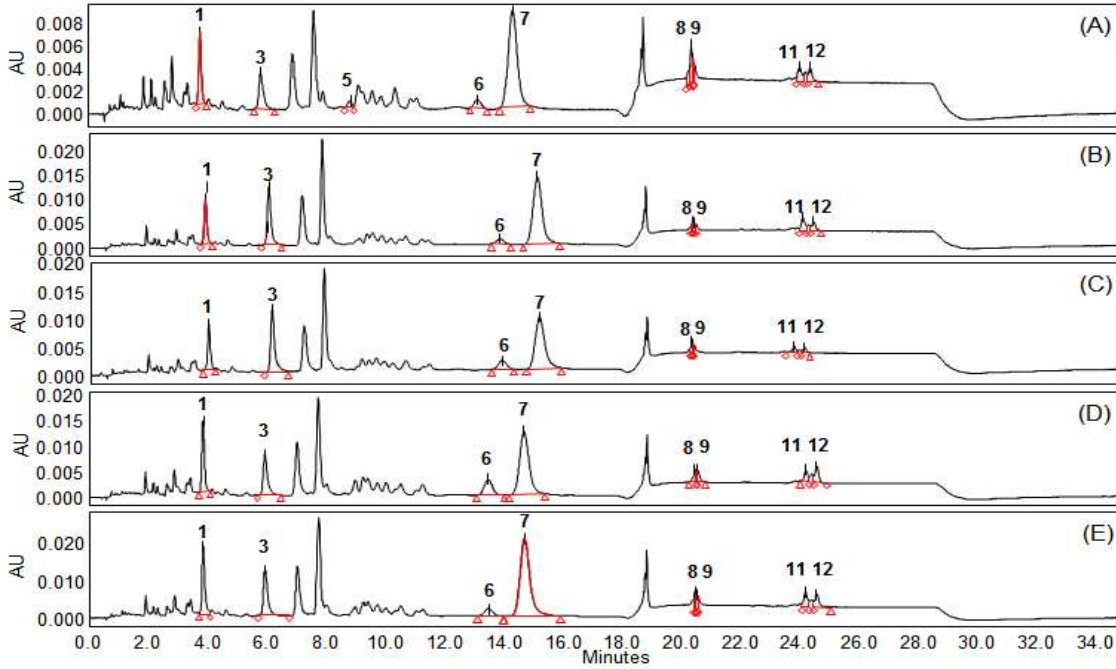


그림 42. 노란색 파프리카의 카로티노이드 크로마토그램(삼성종묘). SW-903(A), SW-904(B), SW-910(C), SW-911(D), SW-918(E). 1, neoxanthin; 3, violaxanthin; 5, antheraxanthin; 6, zeaxanthin; 7, lutein; 8, α -cryptoxanthin; 9, β -cryptoxanthin; 11, α -carotene; 12, β -carotene

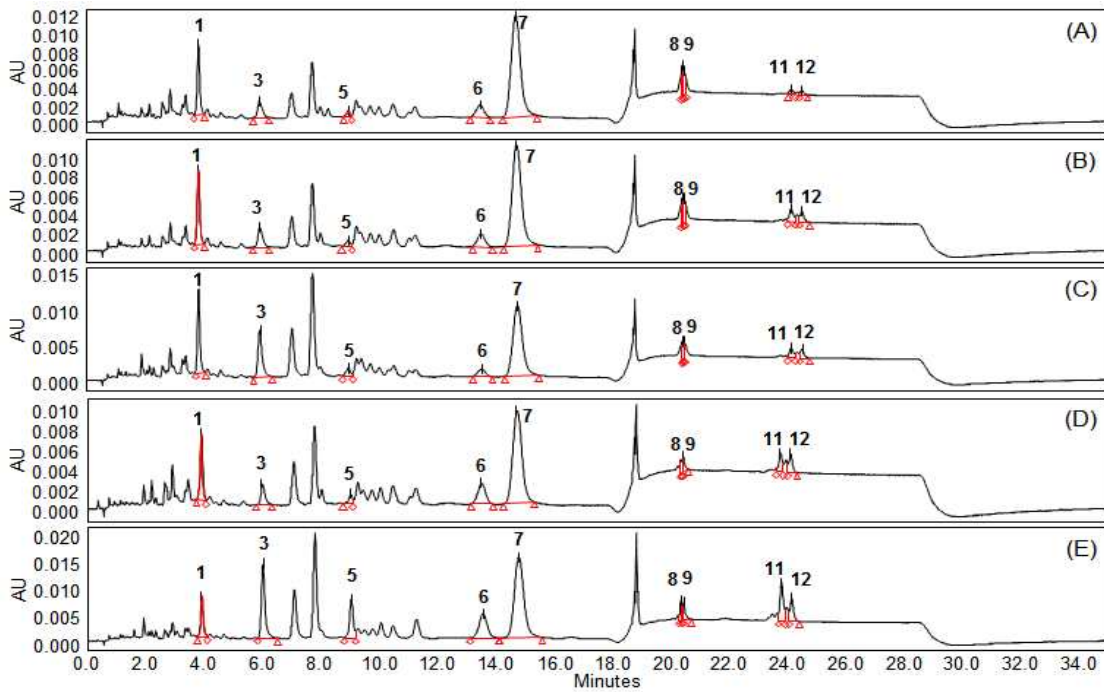


그림 43. 노란색 파프리카의 카로티노이드 크로마토그램(삼성종묘). SW-919(A), SW-920(B), SW-924(C), SW-925(D), SW-927(E). 1, neoxanthin; 3, violaxanthin; 5, antheraxanthin; 6, zeaxanthin; 7, lutein; 8, α -cryptoxanthin; 9, β -cryptoxanthin; 11, α -carotene; 12, β -carotene

- 삼성종묘에서 제공받은 시료의 카로티노이드 분석 결과는 표 41과 같다. 적색 파프리카의 주 카로티노이드는 캡산틴이었으며, 'SW-909' 시료가 7.22 ± 1.54 mg/100g d.w.으로 적색 파프리카 중 캡산틴 함량이 낮았으며, 'SW-901' 시료가 13.05 ± 1.40 mg/100g d.w.으로 캡산틴 함량이 가장 높았다. 'SW-901' 시료는 카로티노이드 중 적색을 나타내는 카로티노이드인 캡소루빈 함량도 1.68 ± 0.18 mg/100g d.w.으로 시료 중 가장 함량이 높은 것을 확인할 수 있었다.
- 주황색 파프리카의 주 카로티노이드는 제아잔틴이었으며, 'SW-926' 시료에서 제아잔틴의 함량이 65.53 ± 4.42 mg/100g d.w.으로 다른 시료에 비해 그 함량이 가장 높았으며, 총 카로티노이드 함량도 91.86 ± 3.75 mg/100g d.w.로 가장 높았다.
- 노란색 파프리카의 주 카로티노이드는 루테인이었으며 'SW-918' 시료에서 루테인의 함량이 10.06 ± 1.42 mg/100g d.w.으로 가장 높았다. 노란색 파프리카의 주 카로티노이드는 루테인이나 노란색 파프리카 전체 시료의 함량은 $5.38 \pm 0.41 \sim 10.06 \pm 1.42$ mg/100g d.w.으로 주황색 파프리카의 루테인 함량인 $12.50 \pm 1.32 \sim 21.56 \pm 0.44$ mg/100g d.w.보다 낮은 수준으로 확인되었다.

표 41. 색상별 파프리카의 카로티노이드 함량 (삼성종묘)

(mg/100g of dry weight)

색상	품종	Neoxanthin	Capsorubin	Violaxanthin	Capsanthin	Antheraxanthin	Zeaxanthin	Lutein	α -Cryptoxanthin	β -Cryptoxanthin	α -Carotene	β -Carotene	Total carotenoids
적색	SW-901	-	1.68±0.18	-	13.05±1.40	-	-	-	-	0.14±0.01	-	0.05±0.00	14.93±1.59
	SW-902	-	1.51±0.08	-	11.55±0.95	-	-	-	-	0.03±0.00	-	0.07±0.01	13.16±1.03
	SW-907	-	1.04±0.24	-	10.76±1.94	-	-	-	-	0.03±0.00	-	0.09±0.01	11.91±2.19
	SW-908	-	1.08±0.18	-	11.66±2.08	-	-	-	-	0.04±0.00	-	0.11±0.01	12.89±2.26
	SW-909	-	0.98±0.13	-	7.22±1.54	-	-	-	-	0.02±0.00	-	0.08±0.01	8.30±1.67
	SW-922	-	0.92±0.06	-	7.94±0.76	-	-	-	-	0.03±0.00	-	0.08±0.01	8.96±0.82
	SW-923	-	0.92±0.11	-	11.99±1.00	-	-	-	-	0.16±0.00	-	0.32±0.05	13.39±1.10
	SW-928	-	0.89±0.03	-	10.92±1.66	-	-	-	-	0.09±0.00	-	0.59±0.16	12.49±1.82
주황	SW-905	0.52±0.10	-	0.39±0.06	-	0.74±0.09	29.89±3.29	12.50±1.32	0.19±0.02	0.23±0.04	0.62±0.12	0.18±0.04	44.53±4.86
	SW-921	0.59±0.09	-	0.61±0.36	-	2.81±1.29	33.72±5.85	14.11±2.95	0.28±0.02	0.26±0.03	0.85±0.08	0.84±0.09	51.25±9.45
	SW-926	1.11±0.01	-	0.93±0.09	-	1.80±0.01	65.53±4.42	21.56±0.44	0.72±0.01	0.42±0.33	0.67±0.56	0.90±0.29	91.86±3.75
	SW-929	0.41±0.01	-	0.61±0.04	-	1.14±0.07	37.90±0.82	13.62±0.09	0.25±0.01	0.35±0.03	1.37±0.05	1.16±0.06	55.66±0.84
노랑	SW-903	0.59±0.06	-	0.71±0.33	-	0.16±0.01	0.73±0.03	5.27±0.48	0.11±0.02	0.04±0.01	0.20±0.03	0.07±0.01	7.89±0.88
	SW-904	0.58±0.06	-	1.49±0.13	-	-	0.74±0.05	6.27±1.00	0.08±0.00	0.03±0.00	0.21±0.04	0.07±0.01	9.47±1.05
	SW-910	0.69±0.13	-	0.64±0.13	-	-	1.04±0.08	7.22±0.80	0.09±0.00	0.03±0.00	0.20±0.03	0.07±0.01	9.98±1.07
	SW-911	0.85±0.07	-	1.32±0.36	-	-	1.19±0.10	6.07±0.52	0.10±0.00	0.04±0.01	0.20±0.02	0.09±0.01	9.87±0.50
	SW-918	1.14±0.04	-	1.40±0.20	-	-	1.01±0.07	10.06±1.42	0.11±0.01	0.04±0.00	0.32±0.02	0.10±0.01	14.17±1.66
	SW-919	0.51±0.05	-	0.26±0.04	-	0.14±0.00	0.87±0.02	5.41±0.63	0.10±0.01	0.04±0.00	0.15±0.05	0.06±0.01	7.39±0.68
	SW-920	0.56±0.00	-	0.35±0.06	-	0.15±0.00	0.84±0.01	5.38±0.41	0.09±0.01	0.04±0.00	0.14±0.03	0.06±0.01	7.46±0.46
	SW-924	0.97±0.08	-	1.20±0.04	-	0.18±0.01	0.85±0.07	6.62±1.08	0.09±0.00	0.04±0.00	0.18±0.03	0.18±0.03	10.12±1.17
	SW-925	0.74±0.20	-	1.38±0.94	-	0.27±0.01	1.29±0.02	8.68±0.25	0.07±0.00	0.05±0.02	0.25±0.05	0.24±0.04	12.70±1.29
SW-927	0.48±0.07	-	1.21±0.29	-	0.35±0.03	1.70±0.03	7.25±1.00	0.10±0.00	0.05±0.00	0.41±0.07	0.28±0.04	11.48±1.30	

¹⁾All results are expressed as mean±SD for three replicates.

- 경남농업기술원에서 제공받은 적색파프리카의 분석결과, acrobat품종이 69.09 ± 8.25 mg/100g d.w. 으로 가장 함량이 높았으며 이 중에서 캡산틴의 함량이 44.01 ± 3.65 mg/100g d.w.으로 60%이상 검출되었다. NHR1, NHR2, NHR3, NHR31은 붉은색으로 캡산틴 함량이 가장 높게 검출되는 경향은 유사하나 제아잔틴과 루테인이 상대적으로 많이 검출되어 기존의 적색파프리카와 다른 경향을 보였다. SR2, SR4, SR6, JBR1, JBR2, JBR3 역시 제아잔틴이 검출되는 특성을 보였다(표 42).
- 주황색과 노란색은 전체적으로 파프리카 색상의 프로파일의 다양하게 분포하는 특성을 보였으며 노란색과 주황색은 카로티노이드의 농도에는 차이가 있으나 카로티노이드 프로파일이 거의 유사하였고 주황색파프리카에서 제아잔틴과 루테인 함량이 다소 높게 나타나는 경향을 보였다.

표 42. 색상별 파프리카의 카로티노이드 함량 (경남농업기술원)

(mg/100g of dry weight)

색상	품종	Neoxanthin	Capsorubin	Violaxanthin	Capsanthin	Antheraxanthin	Zeaxanthin	Lutein	α -Cryptoxanthin	β -Cryptoxanthin	α -Carotene	β -Carotene	Total carotenoids	
	NHR1	-	2.19±0.18	-	11.42±1.53	-	1.57±0.10	3.53±0.22	-	0.08±0.01	-	-	18.78±1.98	
	NHR2	-	2.34±0.08	-	12.10±0.75	-	1.68±0.05	4.23±0.36	-	0.11±0.01	-	0.40±0.00	20.85±1.23	
	NHR3	-	5.30±0.04	-	14.23±1.16	-	2.03±0.13	5.08±0.47	-	0.15±0.01	0.53±0.01	0.64±0.02	27.96±1.79	
	NHR31	-	5.45±0.83	-	15.25±1.88	-	2.12±0.20	5.42±0.64	-	0.16±0.02	0.55±0.04	0.67±0.06	29.62±3.57	
	SR2	0.22±0.00	3.23±1.30	0.30±0.06	15.66±5.71	1.61±0.52	2.39±0.57	-	0.06±0.01	0.25±0.04	-	0.56±0.05	22.60±7.70	
	SR4	0.22±0.00	6.92±1.02	0.40±0.05	31.87±6.36	2.15±0.53	3.58±0.68	-	0.13±0.07	0.41±0.10	0.53±0.05	0.70±0.04	45.06±8.10	
	SR6	0.22±0.00	5.10±0.29	0.34±0.07	26.07±3.94	1.94±0.34	3.28±0.16	-	0.08±0.01	0.34±0.04	0.48±0.04	0.63±0.04	36.90±3.76	
	JBR1	0.57±0.60	6.44±0.56	0.29±0.07	31.63±5.42	2.31±0.19	3.59±0.51	-	0.17±0.07	0.42±0.07	0.45±0.02	0.69±0.02	44.25±6.00	
	JBR2	0.37±0.26	9.77±0.41	0.51±0.14	49.36±1.77	3.22±0.37	5.23±0.15	-	0.07±0.00	0.58±0.01	0.55±0.01	0.77±0.02	67.22±2.07	
	JBR3	0.44±0.38	3.64±0.61	0.31±0.09	19.79±4.14	1.95±0.17	2.73±0.55	-	0.07±0.02	0.33±0.06	0.48±0.07	0.66±0.08	28.44±5.09	
	NWR1	-	3.62±1.53	0.31±0.22	16.84±4.27	-	-	-	-	0.35±0.04	0.49±0.03	0.66±0.08	22.27±6.13	
	NWR2	-	1.94±0.57	0.16±0.02	7.68±2.22	-	-	-	-	0.24±0.01	0.43±0.03	0.52±0.05	10.97±2.87	
	HAR1	-	4.15±0.87	0.51±0.02	13.28±2.15	-	-	-	-	0.30±0.03	0.52±0.03	0.74±0.13	19.50±3.20	
적색	KKR1	-	4.09±1.61	0.26±0.05	19.64±7.89	-	-	-	-	0.30±0.03	0.52±0.03	0.74±0.13	19.50±3.20	
	GHR1	-	5.03±0.98	0.26±0.05	23.24±3.76	-	-	-	-	0.38±0.07	0.45±0.01	0.63±0.06	29.98±4.92	
	SWR314	-	7.13±0.55	0.98±0.06	45.86±8.66	-	-	-	-	0.92±0.16	0.62±0.08	1.92±0.46	57.42±9.84	
	Rrang	-	4.49±0.64	0.29±0.03	20.32±3.07	-	-	-	-	0.27±0.01	0.37±0.01	0.55±0.03	26.30±3.78	
	RaonR	-	3.07±1.14	0.37±0.09	2.57±0.74	-	-	-	-	0.26±0.05	0.40±0.03	0.57±0.07	7.25±2.09	
	RPlus	-	2.13±0.23	0.17±0.05	8.53±1.17	0.92±0.05	-	-	-	-	0.41±0.02	-	12.17±1.50	
	GoggalR	-	2.88±0.04	0.29±0.06	16.47±3.65	2.95±1.16	-	-	-	-	0.28±0.03	0.52±0.05	0.68±0.12	24.08±5.48
	RDGlory	-	2.32±0.51	0.38±0.11	15.46±4.39	3.54±1.20	-	-	-	-	2.13±0.48	0.46±0.08	0.63±0.06	24.92±6.80
	Acrobat	-	9.48±0.68	0.74±0.12	44.01±3.65	5.69±2.02	-	-	-	-	6.41±2.44	0.48±0.01	0.68±0.02	69.09±8.25
	Nagano	-	4.72±1.41	0.24±0.10	12.51±7.89	1.77±0.83	-	-	-	-	2.37±0.72	0.42±0.04	0.60±0.03	22.64±6.77
	98x21	-	0.42±0.11	0.19±0.01	4.12±1.35	1.22±0.24	-	-	-	-	2.89±1.04	-	0.51±0.04	9.35±2.62
	3016x3128	-	3.16±0.28	0.34±0.17	20.20±2.30	4.44±0.60	-	-	-	-	3.61±0.58	0.47±0.03	0.72±0.05	32.93±3.60
	3016x3134	-	2.51±0.75	0.18±0.05	34.95±2.95	3.59±1.95	-	-	-	-	7.97±3.17	0.06±0.09	1.66±0.57	54.16±2.02
	3074x3021	-	2.03±0.34	-	10.70±2.40	1.05±0.18	-	-	-	-	1.64±0.26	0.44±0.04	0.57±0.06	16.70±3.22
3074x3034	-	2.23±0.14	-	13.61±0.46	1.92±1.15	-	-	-	-	3.38±0.41	0.49±0.01	1.08±0.07	22.71±2.11	
3074x3134	-	3.67±0.44	0.51±0.17	36.07±4.03	2.92±0.29	-	-	-	-	5.97±0.99	0.63±0.02	1.88±0.45	51.64±4.76	
Scirocco	-	5.54±1.64	0.26±0.03	30.35±12.14	2.49±1.68	-	-	-	-	5.80±2.58	0.41±0.03	1.04±0.36	45.89±17.38	

¹⁾All results are expressed as mean±SD for three replicates.

-continued

색상	품종	Neoxanthin	Capsorubin	Violaxanthin	Capsanthin	Antheraxanthin	Zeaxanthin	Lutein	α -Cryptoxanthin	β -Cryptoxanthin	α -Carotene	β -Carotene	Total carotenoids
주황	GHO1	-	-	0.17±0.04	-	1.96±0.19	14.05±1.38	7.18±1.09	0.11±0.02	0.30±0.02	0.42±0.03	0.56±0.03	22.79±2.69
	SO1	-	-	0.21±0.02	-	2.27±0.24	14.94±1.22	8.02±1.08	0.25±0.05	0.25±0.07	0.45±0.02	0.59±0.02	24.72±1.26
	Mazzona	0.22±0.00	-	0.17±0.01	-	1.92±0.50	15.07±4.33	10.28±1.86	0.52±0.09	0.57±0.07	0.45±0.05	0.86±0.29	22.77±6.21
	SWO317	0.22±0.00	-	0.22±0.05	-	3.51±0.61	25.65±4.24	12.79±2.66	0.09±0.02	0.38±0.06	0.49±0.05	0.95±0.19	38.85±1.39
	RaonO	0.22±0.00	-	0.18±0.03	-	4.05±0.85	21.17±4.41	12.79±2.66	0.09±0.02	0.38±0.06	0.49±0.05	0.95±0.19	36.31±7.56
	OrangeSmart	-	-	-	-	1.65±0.12	5.35±2.40	5.70±0.34	0.08±0.01	0.29±0.02	0.41±0.01	0.62±0.08	12.44±2.42
	OEGlory	0.22±0.00	-	0.20±0.04	-	1.63±0.06	10.96±1.24	7.89±0.80	0.07±0.02	0.27±0.04	0.42±0.01	0.59±0.02	20.66±2.31
	GoggalO	0.22±0.00	-	0.19±0.01	-	1.98±0.27	11.81±1.49	7.12±0.92	0.07±0.01	0.27±0.02	0.43±0.01	0.67±0.05	20.82±1.19
	Oranos	0.26±0.07	-	0.23±0.02	-	2.30±0.36	15.94±2.45	10.12±1.54	0.10±0.04	0.34±0.04	0.44±0.01	0.79±0.06	28.22±4.03
노랑	HAY1	0.49±0.12	-	0.14±0.02	-	0.93±0.09	0.88±0.02	2.55±0.52	0.04±0.00	0.21±0.01	0.39±0.01	0.50±0.00	5.20±0.71
	GHY1	0.47±0.11	-	0.14±0.01	-	0.87±0.03	0.84±0.00	3.12±0.64	0.03±0.00	0.18±0.00	0.38±0.00	0.48±0.00	5.65±0.75
	NWY1	0.37±0.02	-	0.15±0.04	-	0.85±0.03	0.83±0.01	2.87±1.06	0.04±0.00	0.18±0.00	0.38±0.01	0.49±0.01	5.31±1.06
	NWY2	0.54±0.05	-	0.17±0.02	-	1.14±0.07	0.94±0.03	3.47±0.60	0.04±0.00	0.18±0.00	0.39±0.01	0.49±0.01	6.21±0.71
	NWY3	0.51±0.05	-	0.16±0.01	-	0.94±0.03	0.86±0.03	3.61±0.75	0.03±0.00	0.18±0.00	0.38±0.00	0.48±0.00	6.21±0.82
	JBY1	0.67±0.11	-	0.16±0.02	-	1.25±0.13	1.01±0.06	4.41±0.84	0.05±0.00	0.19±0.01	0.40±0.01	0.51±0.01	7.39±1.03
	NHY5	0.46±0.05	-	0.21±0.01	-	0.91±0.05	0.84±0.00	2.60±0.21	0.03±0.00	0.18±0.00	0.38±0.00	0.48±0.01	5.18±0.26
	NHY6	0.68±0.06	-	0.25±0.02	-	1.09±0.10	0.88±0.02	4.05±0.61	0.04±0.00	0.18±0.00	0.39±0.00	0.49±0.00	6.96±0.70
	NHY7	0.73±0.02	-	0.23±0.01	-	1.05±0.02	0.85±0.01	4.45±0.42	0.04±0.00	0.24±0.01	0.38±0.00	0.48±0.00	7.40±0.45
	KKY4	0.53±0.04	-	0.23±0.02	-	1.18±0.09	0.84±0.00	4.96±0.99	0.04±0.00	0.18±0.00	0.38±0.00	0.48±0.00	7.65±1.07
	SY7	0.55±0.04	-	0.27±0.02	-	1.31±0.07	0.90±0.03	5.07±0.31	0.04±0.00	0.22±0.01	0.38±0.01	0.47±0.02	7.89±0.42
	SY8	0.32±0.01	-	0.28±0.01	-	0.98±0.05	0.84±0.03	2.94±0.23	0.03±0.00	0.17±0.00	0.38±0.00	0.48±0.00	5.45±0.25
	RaonY	0.35±0.01	-	0.46±0.08	-	1.16±0.03	1.08±0.08	5.45±0.91	0.03±0.00	0.21±0.01	0.40±0.01	0.48±0.00	8.47±1.10
	Yanthi	0.69±0.06	-	0.59±0.05	-	1.71±0.16	1.33±0.12	12.85±2.05	0.04±0.00	0.26±0.01	0.46±0.02	0.49±0.01	16.71±2.31
	GoggalY	0.59±0.04	-	0.27±0.01	-	1.34±0.02	1.77±0.16	10.73±0.89	0.06±0.00	0.22±0.01	0.48±0.02	0.56±0.01	14.68±1.14
	WYGlory	0.51±0.02	-	0.72±0.38	-	1.29±0.09	1.22±0.27	7.05±4.97	0.04±0.00	0.21±0.03	0.44±0.04	0.52±0.01	10.73±5.30
Coletti	0.51±0.02	-	0.43±0.19	-	1.25±0.02	1.08±0.26	7.65±4.93	0.05±0.01	0.20±0.01	0.42±0.05	0.51±0.01	10.85±5.49	

¹⁾All results are expressed as mean±SD for three replicates.

- 보라색, 갈색 아이보리색 파프리카에 함유된 카로티노이드 조성을 살펴보면, 표면이 동일한 보라색이지만 경남농업기술원에서 제공받은 보라색파프리카는 표피 아랫부분이 붉은색이었으며 전체 카로티노이드 함량이 25.15 ± 8.80 mg/100g d.w.이었고 이 중에서 캡산틴 함량이 13.70 ± 5.19 mg/100g d.w.으로 50%이상을 차지하였으며 붉은색 파프리카에서 발견되는 카로티노이드류가 검출된 반면, 농산무역에서 판매되고 있는 보라색 파프리카는 카로티노이드 함량이 8.15 ± 0.68 mg/100g d.w.이었고 루테인이 5.59 ± 0.66 mg/100g으로 약 70%를 차지하였다(표 43).
- 갈색 파프리카는 경남농업기술원의 보라색파프리카와 카로티노이드 프로파일은 유사하였고 카로티노이드 함량은 39.85 ± 4.38 mg/100g d.w.이었으며 캡산틴 함량이 21.75 ± 2.74 mg/100g d.w.로 50%이상을 차지하였다. 아이보리색 파프리카는 카로티노이드류가 전혀 검출되지 않았다.

표 43. 보라색, 갈색, 아이보리색 파프리카의 카로티노이드 함량

(mg/100g of dry weight)

색상	품종	Neoxanthin	Capsorubin	Violaxanthin	Capsanthin	Antheraxanthin	Zeaxanthin	Lutein	α -Cryptoxanthin	β -Cryptoxanthin	α -Carotene	β -Carotene	Total carotenoids
보라(경남농업기술원)		0.66±0.21	3.43±1.14	0.68±0.17	13.70±5.19	2.34±0.74	0.97±0.14	4.06±1.36	-	0.38±0.10	-	1.26±0.50	25.15±8.80
보라(농산무역)	마브리스	0.24±0.00	-	-	-	-	0.87±0.01	5.59±0.66	-	0.17±0.00	-	0.57±0.04	8.15±0.68
갈색	브라운니	2.86±0.21	1.18±0.11	0.52±0.03	21.75±2.74	-	2.42±0.13	10.12±1.22	-	0.39±0.09	-	0.62±0.03	39.85±4.38
아이보리	비양카	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

¹⁾All results are expressed as mean±SD for three replicates.

- 농협에서 의뢰한 시료는 노란색의 강도가 다른 파프리카 2종의 카로티노이드 프로파일을 비교하고자 하였다. 분석결과 연노랑 2471시료는 연한색으로 보이지만 루테인의 함량이 높아 총 카로티노이드 함량은 20.33 ± 3.93 mg/100g d.w.로 연노랑 2497 시료의 5.10 ± 0.77 mg/100g d.w. 보다 높게 나타났다.
- 반면, 진노랑 파프리카에서는 2469 시료의 경우 총 카로티노이드 함량이 42.09 ± 15.97 mg/100 d.w.으로 높았는데, 제아잔틴 24.49 ± 14.93 mg/100g d.w.과 11.13 ± 1.44 mg/100g의 함량이 높고 붉은색 파프리카에서 검출되는 캡산틴, 캡소루빈이 소량 검출되어 색의 강도에 영향을 미친 것으로 보인다.

표 44. 색상별 파프리카의 카로티노이드 함량 (농협)

(mg/100g of dry weight)

색상	품종	Neoxanthin	Capsorubin	Violaxanthin	Capsanthin	Antheraxanthin	Zeaxanthin	Lutein	α -Cryptoxanthin	β -Cryptoxanthin	α -Carotene	β -Carotene	Total carotenoids
진노랑 · 연노랑	2318	0.86±0.27		0.99±0.94		1.65±0.09	7.55±1.52	3.90±0.55	0.26±0.21	0.66±0.44		0.79±0.19	16.56±3.18
	2471	0.83±0.28		0.19±0.02		1.95±0.21	11.02±4.06	6.63±1.02		0.25±0.06		0.59±0.05	20.33±3.93
	2497	0.53±0.07		0.15±0.02		0.86±0.04	0.87±0.03	2.90±0.69		0.17±0.00		0.48±0.01	5.10±0.77
	2094	1.87±0.21	0.36±0.04	0.65±0.23	0.81±0.04	0.81±0.04	0.89±0.06	12.86±0.83	0.03±0.00	0.17±0.00	0.42±0.01	0.53±0.02	19.02±1.11
	2469	1.65±0.73	0.27±0.02	0.17±0.05	0.71±0.01	1.80±1.08	24.49±14.93	11.13±1.44	0.21±0.12	0.31±0.12	0.52±0.10	0.63±0.12	42.09±15.97
	2246	1.82±0.15	0.37±0.03	0.24±0.02	0.79±0.04	0.79±0.01	1.12±0.08	7.68±0.65	0.03±0.00	0.17±0.00	0.40±0.01	0.51±0.01	13.13±0.80

¹⁾All results are expressed as mean±SD for three replicates.

제 6 절. 파프리카 유래 플라보노이드 동시 분석

- 플라보노이드 표준품으로 gallic acid, protocatechuic acid, chlorogenic acid, catechin, caffeic acid, luteolin, naringenin, apigenin은 Extrasynthese Co. (Genay, France)에서 구입하였으며, quercetin과 kaempferol은 Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, Mo, USA)에서 구입하였다.
- 파프리카 유래 플라보노이드 동시 분석 조건을 확립하기 위해 플라보노이드 10종 분석을 위한 UPLC 조건은 표 45와 같다. 플라보노이드 10종 동시분석 조건의 크로마토그램은 그림 44와 같으며 분리된 플라보노이드 표준품 10종의 머무름 시간은 갈릭산 0.854분, 프로토키테퀴산 1.704분, 클로로젠산 3.015분, 카테킨 3.097분, 카페익산 0.222분, 루테올린 7.065분, 퀴세틴 7.096분, 나린제닌 8.183분, 아피제닌 8.299분, 캄페롤 8.641분으로 나타났다. 10종의 플라보노이드 표준품 중 카테킨과 카페익산, 루테올린과 퀴세틴, 나린제닌과 아피제닌은 분석 조건을 조정하여 분리도를 높여 단일피크로 정량 가능 하도록 수행되어야 한다.

표 45. 플라보노이드 10종 분석을 위한 UPLC 조건

Instrument	ACQUITY UPLC H-Class (Waters)
Solvent	(A)D.W.(0.1% formic acid) (B)acetonitrile (0.1% formic acid)
Gradient system	0min 98% A - 6min 75% A - 10min 75% A - 12min 98% A - 13min 98% A
Flow rate	0.4 mL/min
UV wavelength	270 nm
Column	Acquity UPLC BEH C18 (2.1×50mm, 1.7um)
Oven temperature	35 °C
Injection volume	1.0μL

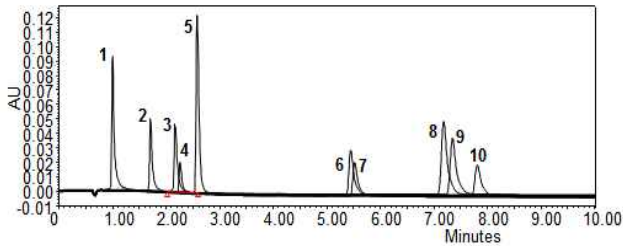
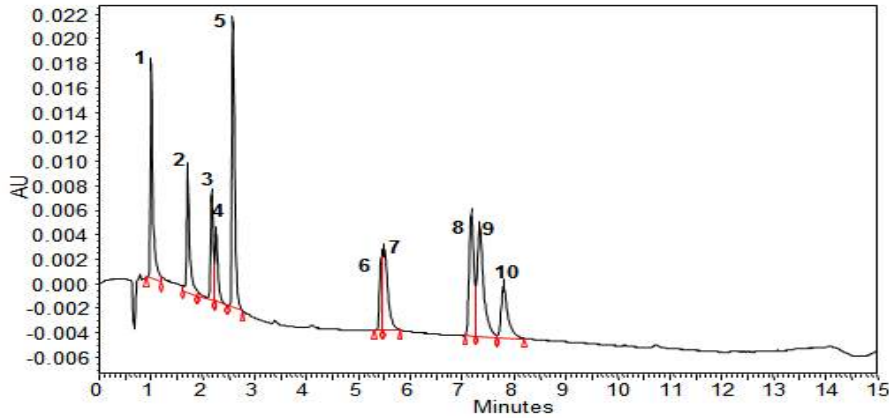


그림 44. 플라보노이드 표준품 10종 크로마토그램 1, gallic acid; 2, protocatechuic acid; 3, chlorogenic acid; 4, catechin; 5, caffeic acid; 6, luteolin; 7, quercetin; 8, naringenin; 9, apigenin; 10, kaempferol

- (주) 농산무역에서 제공받은 시료 중 적색과 바이런 품종, 주황색과 오렌지프로 품종, 노란색과 볼란테 품종, 녹색과 바이런 품종, 파프리카 잎에서 플라보노이드 추출을 수행하였다. 건조시료 1g에 80% 메탄올 10mL을 넣고 1시간 동안 sonication을 이용해 추출 후 N₂ gas로 용매를 제거하여 2mL로 정용하였다. 여기에 동량의 MeOH를 넣은 후 4,000rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액 4mL과 동량의 2.8M HCl/MeOH을 혼합하여 90°C에서 10분간 가수분해를 수행하였다. 가수 분해 후 MeOH를 제거한 후 남은 추출액 2mL과 ethylacetate 2mL을 혼합 및 원심분리 후 상층액을 취해 N₂ gas로 용매를 제거하여 40% MeOH 로 용해하여 MILLEX-HV 0.22 μ m PTEF syringe filter(Millipore Corp. Bedford. MA. USA)로 여과한 후 분석에 사용하였다.

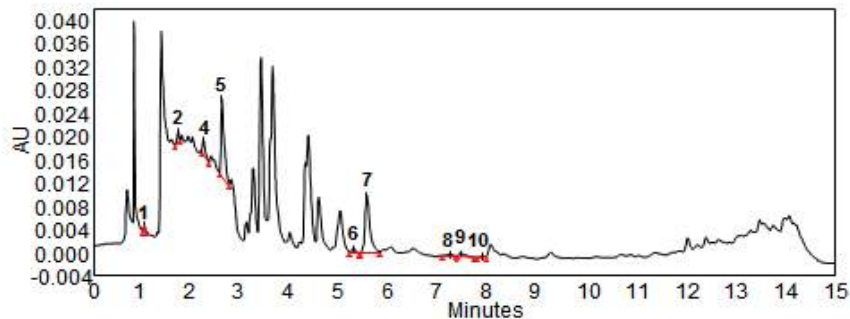


그림 45 적색 파프리카의 플라보노이드 크로마토그램. 1, gallic acid; 2, protocatechuic acid; 4, catechin; 5, caffeic acid; 6, luteolin; 7, quercetin; 8, naringenin; 9, apigenin; 10, kaempferol

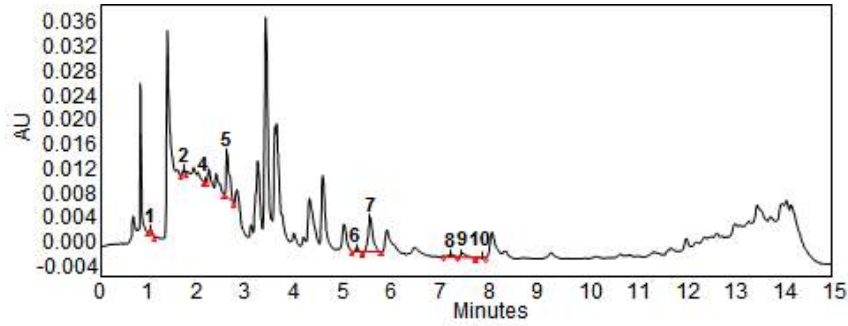


그림 46. 주황색 파프리카의 플라보노이드 크로마토그램 1, gallic acid; 2, protocatechuic acid; 4, catechin; 5, caffeic acid; 6, luteolin; 7, quercetin; 8, naringenin; 9, apigenin; 10, kaempferol

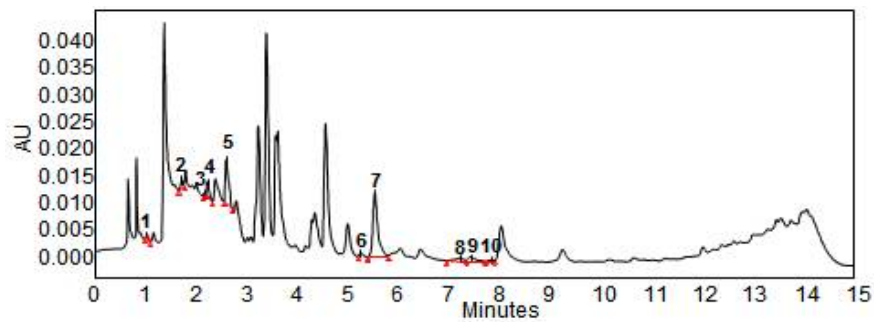


그림 47. 노란색 파프리카의 플라보노이드 크로마토그램 1, gallic acid; 2, protocatechuic acid; 3, chlorogenic acid; 4, catechin; 5, caffeic acid; 6, luteolin; 7, quercetin; 8, naringenin; 9, apigenin; 10, kaempferol

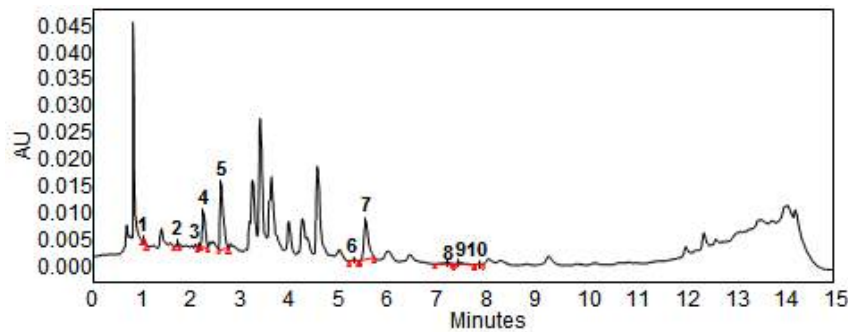


그림 48. 녹색 파프리카의 플라보노이드 크로마토그램 1, gallic acid; 2, protocatechuic acid; 3, chlorogenic acid; 4, catechin; 5, caffeic acid; 6, luteolin; 7, quercetin; 8, naringenin; 9, apigenin; 10, kaempferol

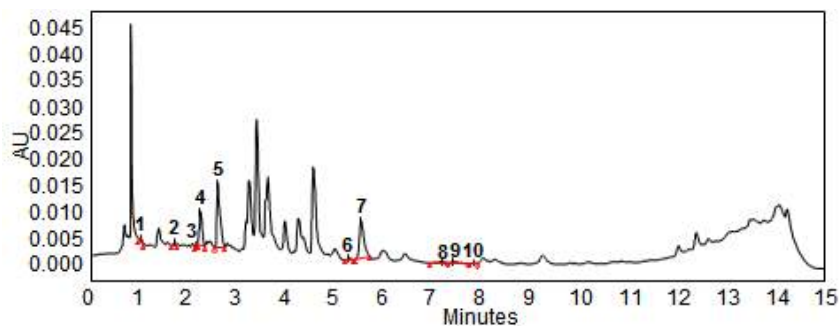


그림 49. 녹색 파프리카의 플라보노이드 크로마토그램 1, gallic acid; 2, protocatechuic acid; 3, chlorogenic acid; 4, catechin; 5, caffeic acid; 6, luteolin; 7, quercetin; 8, naringenin; 9, apigenin; 10, kaempferol

- 폴리페놀 분석조건은 HPLC에 의해 범용적으로 이루어지고 있으므로 HPLC를 활용한 분석 조건을 설정하였다. Gallic acid, Protocatechuic acid, Chlorogenic acid, Catechin, Puerarin, 4-Hydroxy benzoic acid, Caffeic acid, *p*-coumaric acid, Ferulic acid, Naringin, Myricetin, Luteolin, Quercetin, Naringenin, Equol, Kampferol 등 총 16종의 폴리페놀 동시분석을 실시 하였으며 분석조건과 크로마토그램은 표 46, 그림 50과 같다.

표 46. 폴리페놀 16종 분석을 위한 HPLC 조건

Instrument	ALLIANCE HPLC e2695 (Waters)
Solvent	(A)D.W.(0.1% formic acid) (B)acetonitrile (0.1% formic acid)
Gradient system	0 min 90% A - 10 min 80% A - 30 min 72% A - 35 min 69% A - 40 min 90% A
Flow rate	1 mL/min
UV wavelength	280 nm
Column	ZORBAX Eclipse XDB C18 (4.6×250 mm, 5 um)
Oven temperature	37°C
Injection volume	10 µL

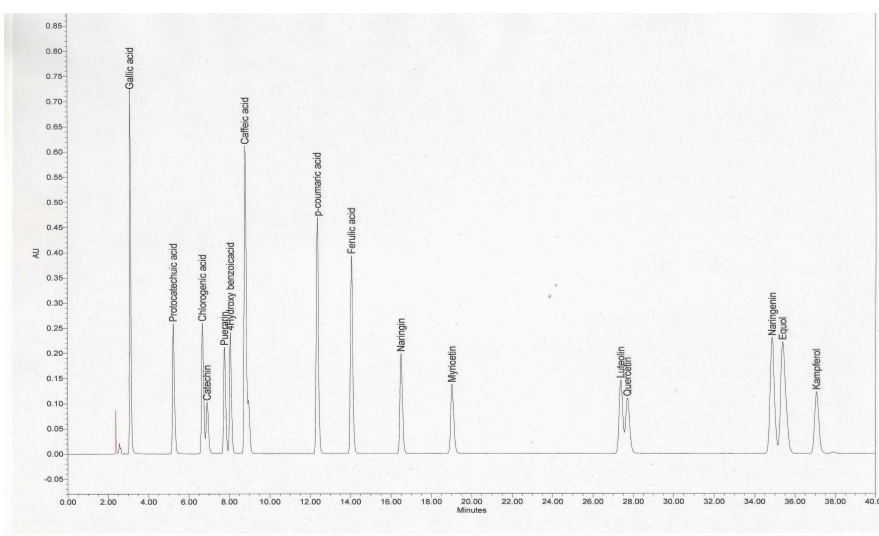


그림 50. 폴리페놀 16종 동시분석 크로마토그램

- 자색파프리카는 가지와 같이 선명한 보라색을 띄고 있어 안토시아닌계열의 색소를 함유하고 있을 것으로 사료되어 그 조성을 비교하기 위해 자색파프리카 유래 안토시아닌탐색 및 분석조건 설정 연구를 실시하고자 과육의 단면 내부가 녹색인 파프리카와 내부가 붉은색인 파프리카로 구분되었으며 그에 따라 카로티노이드 구성에 차이가 있는 2종의 자색파프리카를 수집하였다.
- 안토시아닌 분석 조건은 대표적인 안토시아닌인 시아니딘, 페오니딘, 페투이딘, 델피니딘, 펠라고닌을 기준으로 분석 조건을 설정하였으며 시료는 가수분해방법으로 당을 제거한 후 비교하였다. HPLC 분석조건은 표 47과 같고 크로마토그램은 그림 51과 같다.
- 파프리카 표면이 육안으로는 동일하게 보일 정도로 보라색인 2품종을 비교한 결과, 농산무역에서 제공받은 자색파프리카(품종명: 마브리스)는 시아니딘이 함유된 것으로 보이며 이는 해외 자색 품종에서 보고된 바와 일치하였다. 그러나 경남농업기술원에서 제공받은 품종에서는 시아니딘이 검출되지 않았으며 분리 과정에서도 안토시아닌색소종이 보이는 추출 패턴을 보이지 않았다. 향후 이 성분을 탐색하는 과정이 필요하다.

표 47. 안토시아닌 분석을 위한 HPLC 조건

Instrument	ALLIANCE HPLC e2695 (Waters)
Solvent	(A)10% formic acid (B) 10% formic acid, 22.5% MEOH, 22.5% CAN
Gradient system	0min 91% A - 12min 91% A - 25min 65% A - 26min 50% A - 30min 50% A - 31min 91% A - 35min 91% A
Flow rate	1 mL/min
UV wavelength	520 nm
Column	ZORBAX Eclipse XDB C18 (4.6×250 mm, 5 um)
Oven temperature	35°C
Injection volume	10 µL

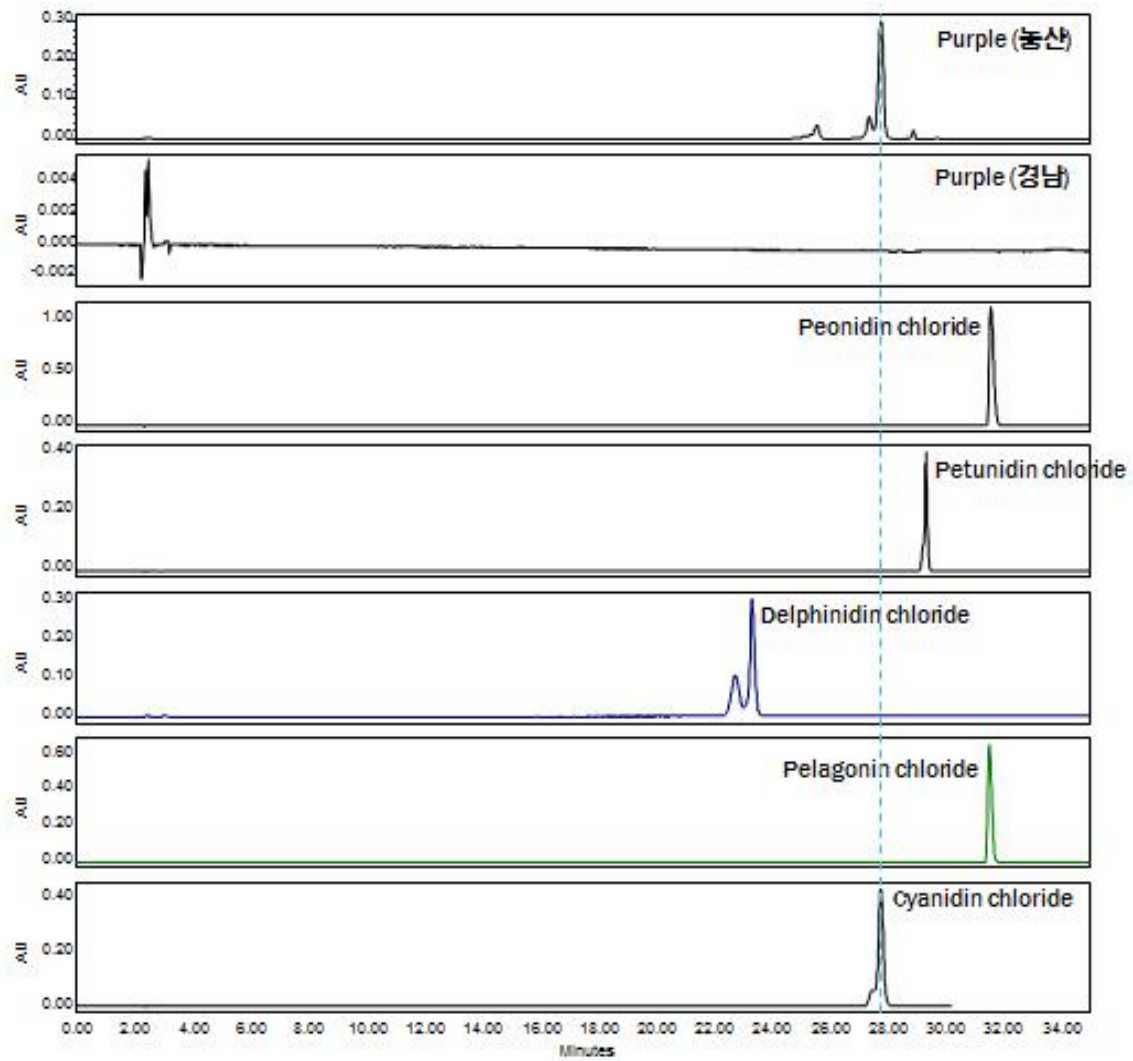


그림 51. 안토시아닌 분석 크로마토그램

제 7 절. 파프리카 추출물의 항산화·항당뇨 활성

1. 항산화활성

- 색상별 파프리카의 항산화활성을 측정하기 위해 ABTS 라디컬 소거능과 DPPH 라디컬 소거능을 측정하였다. (주) 농산무역에서 구입한 적색과, 보라색2, 갈색, 아이보리색, 경남농업기술원에서 제공받은 보라색1 파프리카를 동결건조한 후 80% 메탄올로 추출하여 고형분 1.0 mg/mL로 동일한 농도로 시료를 준비하여 측정하였으며 대조군으로 당조고추와 비타민 C를 이용하였다.
- 항산화능 측정을 위한 전처리는 다음과 같다. 색상별로 구분한 파프리카 5 g를 80% 에탄올 50 mL을 사용하여 추출 및 여과하였으며 진공농축기로 감압 농축하여 에탄올 층을 모두 제거한 후 시료로 80% 에탄올로 희석하여 사용하였다. ABTS radical 전자공여 소거능은 Arnao 등(23)의 방법을 이용하여 측정하였다.
- 2,2'-Azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)(ABTS) 2.5 mM과 2,2'-azobis(2-amidino-propane) dihydrochloride(AAPH) 1.0 mM을 각각 150 mM NaCl이 포함된 100 mM phosphate-buffered saline(PBS, Gibco, Grand Island, NY, USA) 용액에 녹여 1:1로 혼합하고 68°C 항온수조에서 일정 시간 방치하여 ABTS⁺양이온을 형성시켜 743 nm에서 흡광도 값이 0.65 ± 0.02 가 되도록 조절한 후, 이 용액 900 μ L에 파프리카 건조시료의 에탄올 추출액 100 μ L를 가하여 37°C에서 10분간 반응시킨 후에 흡광도의 변화를 측정하였다.
- DPPH radical 전자 공여 소거능은 Brand-Williams 등의 방법을 이용하여 측정하였다. 4×10^{-4} M 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 메탄올 용액 980 μ L와 파프리카 시료 20 μ L를 혼합하여 상온에서 20분 동안 방치하여 525nm에서 측정하였다. ABTS와 DPPH radical로 억제된 정도는 시료 첨가구와 무첨가구 사이의 흡광도 차이를 백분율(%)=(1-(시료의 흡광도/대조군의 흡광도)) \times 100 계산하였다.
- 파프리카 추출물의 색상별 ABTS 라디컬 소거능을 분석한 결과, 농도가 높을수록 활성이 증가하였으며, 1 mg/mL을 기준으로 붉은색>아이보리색>갈색>보라색1>보라색2의 순으로 활성이 높았으며, 붉은색 파프리카는 당조고추보다도 활성이 높은 것으로 나타났다.
- 파프리카 추출물의 색상별 DPPH 라디컬 소거능을 분석한 결과, 농도가 높을수록 활성이 증가하였으며, 1 mg/mL을 기준으로 붉은색>갈색>아이보리색>보라색1>보라색2의 순으로 활성이 높았으며, 붉은색과 갈색 파프리카는 당조고추보다도 활성이 높은 것으로 나타났다.

표 48. 파프리카 추출물의 색상별, 농도별 ABTS 소거능 활성 평가

	0.1 mg/mL	0.5 mg/mL	1 mg/mL	5 mg/mL	10 mg/mL
붉은색	1.06±0.17	4.24±0.44	9.78±0.38	51.90±1.09	93.88±0.08
보라색1	1.11±0.52	4.43±0.25	7.81±0.51	32.48±0.77	72.19±0.08
갈색	1.16±0.22	4.77±0.22	8.96±0.08	38.99±0.50	83.18±1.64
아이보리색	1.01±0.33	5.21±0.17	9.21±0.25	46.75±0.22	81.64±3.27
보라색2	0.77±0.44	2.17±0.22	3.86±0.66	18.36±5.62	31.61±1.38
당조고추	0.68±0.15	4.82±0.58	9.59±0.08	40.63±1.39	78.94±1.59
Vit.C	44.43±1.81	93.98±0.08			

Mean±SD (n=3)

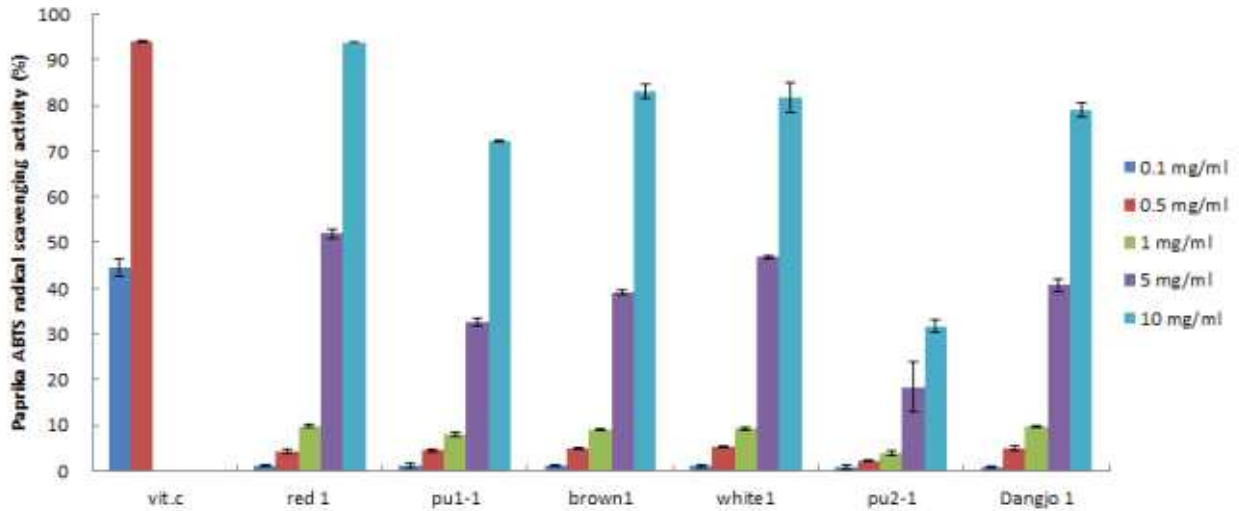


그림 52. 파프리카 추출물의 색상별, 농도별 ABTS 소거능 활성 비교

표 49. 파프리카 추출물의 색상별, 농도별DPPH 소거능 활성 평가

	1 mg/mL	5 mg/mL	10 mg/mL
붉은색	7.99±0.00	79.32±1.09	95.18±0.06
보라색1	5.73±3.45	52.88±2.58	94.58±0.17
갈색	7.94±2.84	74.81±1.04	94.64±0.07
아이보리색	7.52±2.67	80.35±0.58	92.72±0.04
보라색2	2.84±3.21	13.59±0.52	44.08±1.30
당조고추	7.77±2.41	77.57±5.13	91.72±0.04
Vit.C	80.056±2.270 (0.1 mg/mL)	96.853±0.000 (0.5 mg/mL)	

Mean±SD (n=3)

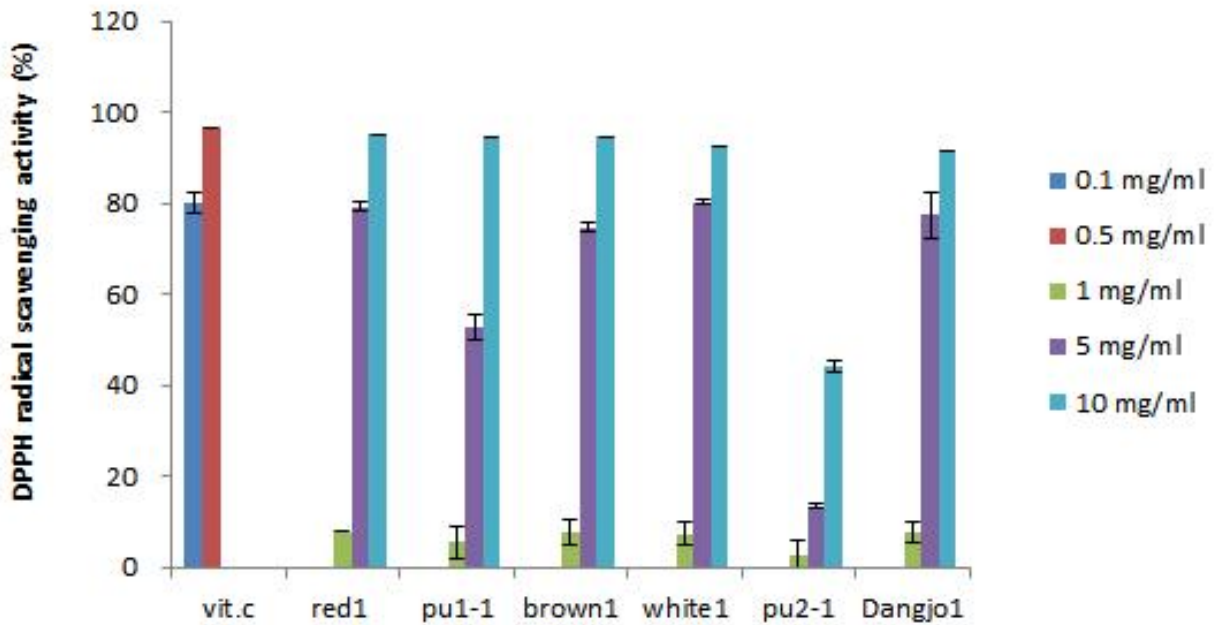


그림 53. 파프리카 추출물의 색상별, 농도별 DPPH 소거능 활성 비교

2. 항당뇨활성

- 색상별 파프리카의 AGI 효능을 평가하기 위해 (주) 농산무역에서 제공받은 적색과 바이런 품종, 주황색과 오렌지프로 품종, 노란색과 볼란테 품종, 녹색과 바이런 품종을 이용하여 건조시료에 80% 메탄올로 추출하여 고형분 1.0 mg/mL로 동일한 농도로 시료를 준비하여 평가하였다.
- α -Glucosidase inhibitory assay를 위해 sodium phosphate dibasic, sodium phosphate monobasic, 4-Nitrophenyl- α -D-glucopyranoside, α -Glucosidase(from *Saccharomyces cerevisiae*), sodium carbonate, sodium bicarbonate는 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다.
- 0.1M sodium phosphate buffer(pH 7.0) 20 μ L, 20mM pNPG (p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside) 20 μ L, 시료 또는 대조구로서 MeOH 20 μ L를 첨가하여 37°C에서 5분간 반응시킨 후 ELISA를 이용하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. α -Glucosidase from *Saccharomyces cerevisiae*(0.075 U/mL) 20 μ L을 첨가하여 37°C에서 15분간 반응 후 0.1M sodium carbonate buffer(pH 10.8) 160 μ L을 첨가하여 반응을 종료한 후 ELISA를 이용하여 405nm에서 흡광도를 측정하였다. AGI 저해율은 다음의 식에 의해 계산되었다.

$$\text{저해율(\%)} = [(1 - \text{시료의 흡광도 차} / \text{대조구의 흡광도 차}) \times 100]$$

- 색상별 파프리카 시료의 AGI 효과는 그림 54와 같다. 적색 파프리카 바이런 품종이 65.86 \pm 0.90%로 가장 높은 억제능을 보였으며($p < 0.05$), 주황색 파프리카인 오렌지프로 품종과 노란색 파프리카인 볼란테 품종이 각각 49.71 \pm 1.16%와 47.02 \pm 6.26%로 비슷한 수준의 억제능을 보였다. 색상별 파프리카 중 AGI 효과가 가장 낮은 것은 녹색 파프리카 바이런 품종으로 21.71 \pm 2.16%를 나타냈다($p < 0.05$).

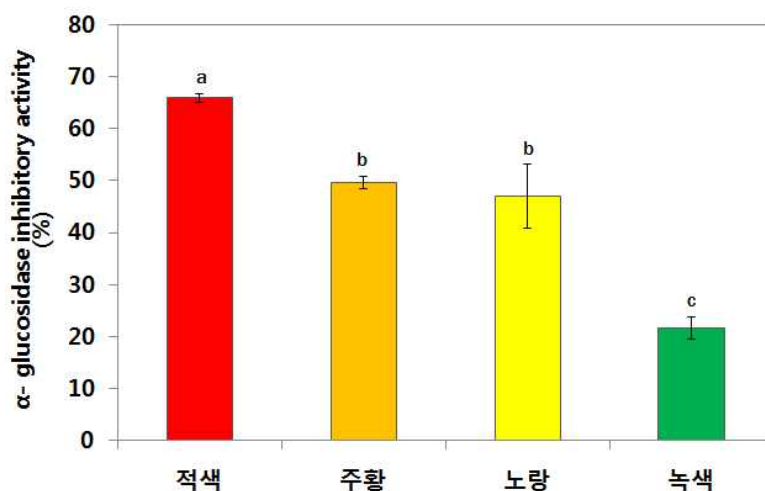


그림 54. 색상별 파프리카의 AGI 효과

제 8 절. 배발생 효율 향상을 위한 소포자 배양 기술 개발

1. 배양모본의 준비

- 1차년도 2013와 2014년은 충북 진천군 광혜원 6,000평 유리온실에 재식된 시로코, 마듀로, 코에티 등 F₁ 품종을 이용하여 1차 배양을 시작하였다.
- 2차년도는 진천군 소재 유리온실에서 F₁을 이용한 실험을 지속하고, 본사 유리온실과 비닐 온실에서 재배된 F₁ 및 F₂를 이용하였고, F₁ 품종은 2013년 8월 중순 파종하여 2013년 10월 유리온실(충북 진천군 이월면 7,000평 유리온실)에 재배되는 적색(Scirocco, Maduro), 오렌지(Mazzona), 황색계(Coetti, Inglesa)를 대상으로 실시하였다.
- F₂는 전라북도 농업기술원 파프리카 시험장에서 분양받은 적색계, 오렌지, 황색계 등 9개 계통을 재료로 사용하였다(표 50).

표 50. 2013~2014년도 파프리카 소포자배양에 사용된 품종

품종명	특성	세대	회사명	품종명	특성	세대	회사명
Scirocco		F ₁	EnzaZaden	Scirocco		F ₂	EnzaZaden
Maduro				Veyron		F ₂	EnzaZaden
				Cupra		F ₂	EnzaZaden
				Nagano		F ₂	RijkZwaan
Mazzona		F ₁	EnzaZaden	Mazzona		F ₂	EnzaZaden
				Orange Pro		F ₂	Westland
Coetti		F ₁	EnzaZaden	Coetti		F ₂	EnzaZaden
Inglesa		F ₁	Syngenta	Stayer		F ₂	EnzaZaden
				Sven		F ₂	RijkZwaan
5품종				Red 4품종, Orange 2품종, Yellow 3품종			

- 2013년 9월 하순 파종하여 11월 중순 본사 비닐온실에 정식하였다. 지속적인 배양재료 확보를 위하여 2개월 간격으로 유전자원 수집종자 및 F₂, F₃ 종자를 파종하였다.
- 재배환경은 유리온실, 비닐온실 모두 최저 20°C, 최고 30°C를 유지 하였고, 정기적으로 살균제 및 살충제 살포하여 병해충이 발생하지 않도록 관리하였다. 그러나 동절기 광량 및 일조량은 비닐온실과 유리온실 간에 차이가 심해 유리온실은 50,000Lux 유지가 가능하였으나 비닐온실은 10,000Lux 정도로 일조량이 부족하여 형광등 조명을 오전 7:00~20:00까지 보조광을 이용하였다.
- 3차년도 배양재료는 2014년 9월 파종하여 2014년 10월 유리온실에 재식된 F₁ Red(Sirocco-EnzaZaden), Yellow(Coetti-EnzaZaden), Orange(No.DSP7054)의 제1화방을 수확한 후 3월부터 배양재료로 이용하였다.
- 지속적인 배양재료 확보를 위하여 2013년, 2014년도 수집한 유전자원 및 경남농업기술원 의

외 품종의 파종은 2014년 11월, 2015년 2월, 5월, 10월 4차에 걸쳐 파종하였으며(표 51), 2015년 및 2016년 배양모본 양성을 위하여 3회(표 52) 파종하였다. 발아된 모든 식물은 암면 및 코코피트 배지에 정식하여 배양재료로 이용하였다.

- 우수품종의 세대 단축을 위해 약배양 및 shed culture를 2016년에 실시하였는데 사용된 모본은 유리온실에서 재식된 F2세대 B2TS(발타사)와 P2TS(팔코)품종으로 군산 파프리카 시험장에서 TSWV 저항성 품종으로 개발된 계통을 이용하였다.
- 수집 유전자원은 특성조사와 선발을 함께 진행하였다. 모든 모본의 재배는 네덜란드 배양액을 이용하였다(표 53).

표 51. 배양모본의 파종 및 정식 일정 (2014년)

품종 / 계통	1차파종 2014.11.21		2차파종 2015.02.26		3차파종 2015.05.12		4차파종 2015.10.26	
	파종수	정식	파종수	정식	파종수	정식	파종수	정식
CA1	10	5	20	4	-	-	-	-
CA7	10	8	20	6	-	-	-	-
CA8	10	8	20	7	-	-	-	-
K1	-	-	10	4	20	9	20	8
K2	-	-	10	6	20	7	20	x
K3	-	-	10	3	20	9	20	4
K4	-	-	10	2	20	13	20	5
K5	-	-	10	5	20	12	20	3
K6	-	-	10	9	20	13	20	9
N1	-	-	10	6	20	10	20	x
N2	-	-	10	5	20	14	20	2



그림 55. 배양모본의 파종

표 52. 배양모본의 파종 및 정식일정(2015~2016년)

품종 / 계통	1차파종 2015.11		2차파종 2016.03		3차파종 2016.06	
	파종수	정식	파종수	정식	파종수	정식
CA1	10	5	20	0	-	-
CA7	10	8	20	6	-	-
CA8	10	8	20	7	-	-
CA15	10	6	20	10	-	-
K1	-	-	10	3	20	10
K2	-	-	10	3	20	7
K3	-	-	10	5	20	6
K4	-	-	10	3	20	12
K5	-	-	10	5	20	8
K6	-	-	10	5	20	9
J64외	전북기술원 5월 각 5주 인수 6월 정식(발타사, 팔코-B2TS, P2TS 저항성품종)					

표 53. 네덜란드 배양액 조성표

(1t 100배액기준)

	성분	4수염	10수염	비고
A액	질산칼슘 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	100.3kg	91.8kg	
	질산칼륨 KNO_3	34.1kg	29.85kg	
	철(Fe-EDTA 13%)	0.6kg	0.6kg	
B액	질산칼륨 KNO_3	34.1kg	29.85kg	
	제1인산칼륨 KH_2PO_2	17.0kg	15.0kg	
	황산칼륨 K_2SO_2		4.4kg	
	황산마그네슘 $\text{MgSO}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	37.0kg	37.0kg	
	황산구리 $\text{CuSO}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	18.9g	18.9g	
	붕산 H_3BO_3	185.2g	185.2g	
	황산망간(1수염) $\text{MnSO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	168.9g	168.9g	
	황산아연 $\text{ZnSO}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	143.8g	143.8g	
몰리브덴암모늄 $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	8.8g	8.8g		

- 재배환경은 유리온실, 비닐온실 모두 최저 15°C, 최고 30°C를 유지 하였고, 정기적으로 살균제 및 살충제 살포하여 병해충이 발생하지 않도록 관리하였다. 그러나 동절기 광량 및 일조량은 비닐온실과 유리온실 간에 차이가 심해 유리온실은 50,000Lux 유지가 가능하였으나 비닐온실은 10,000Lux 정도로 일조량이 부족하여 형광등 조명을 오전 7:00~10:00, 오후 17:00~20:00까지 보조광을 이용하였다.



그림 56. 배양 적합한 화뢰의 크기(1핵기 중반~2핵기초반)

2. 소포자 나출방법

- 소포자의 나출을 위하여 꽃봉우리의 선택은 윤 등의 방법에 따라 stage II부터 stage V까지 즉, mid-uninucleate부터 early bicellula stage까지(약이 1/4이 자색으로 착색되었을 때부터 3/4까지 착색, 그림 56)의 화뢰를 채취하여 70% ethanol에 20초 표면살균 후 2% sodium hypochlorite용액으로 15분간 소독하고 멸균수로 3회 수세하였다.
- 소포자 나출을 약 30개 꽃봉우리를 유발/유봉 maceration, sieve/vortexing, chop/vortexing, Micro blending의 방법으로 전처리배지 10mL를 첨가한 후 가볍게 마쇄 및 chop/vortexing 하였다(그림 57).
- 소포자외의 절편체 제거를 위하여 메쉬의 크기가 $75\mu\text{m}$ 와 $38\mu\text{m}$ 및 $45\mu\text{m}$ 인 sieve를 이용하여 크기가 큰 체세포 조직파편들을 제거한 후 소포자 현탁액을 50mL centrifuge tube로 옮기고 전처리 배지를 첨가하여 30mL로 맞추는 후 1,000rpm에서 5분 동안 원심분리 하였다.
- 상등액을 제거하고 전처리 배지 30mL를 첨가하여 vortexing 한 후 1,000rpm에서 5분간 원심분리 하였다. 이와 같은 수세과정을 2회 실시하였다.



그림 57. 소포자 배양에 사용되는 blender, container, sieve

- 전처리가 끝난 소포자 현탁액은(소포자 밀도 $2 \times 10^5/\text{mL}$) 50mL centrifuge tube에 수확하여 1,000rpm으로 원심분리하여 상등액을 버리고 15mL(소포자 밀도 $10 \times 10^4 \text{mL}/\text{mL}$) 배양배지를 첨가하여 60*15mm 배양접시에 1.5mL씩 분주하였다. 배지의 첨가는 배양 5일, 7일에 각 1.5, 1.0 mL씩 첨가하였다(그림 57).

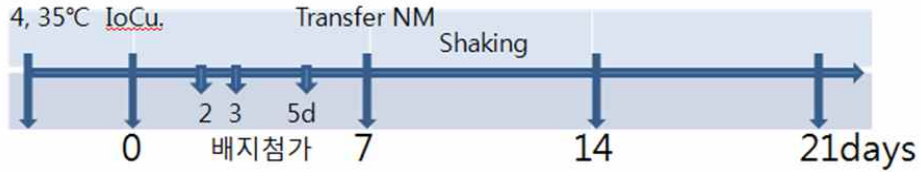


그림 58. 파프리카 소포자 배양진행 과정

- 소포자 획득 수율을 높일 수 있는 나출방법을 확립하고자, 유발과 유봉을 이용한 maceration과 hand blender를 이용한 blending과 vortexing의 방법으로 소포자를 나출하였다.
- 배양적기의 화뢰 30buds를 유발에 넣고 전 처리액 5mL를 첨가하여 마쇄하고, 75+38 μm sieve에 걸러 소포자를 수집하였다. Blending 방법은 50mL centrifuge tube에 30개의 bud를 넣고 10,000 rpm으로 10초 2회 blending 한 후 vortexing 하여 75+45 μm sieve에 걸러 50 mL centrifuge tube에 수집하였다. 수집된 microspore는 전처리용액 30mL로 volume를 맞춘 후 1,000rpm으로 5분간 2회 centrifuge하여 상등액을 버리고 소포자만을 수집하였다(그림 59).

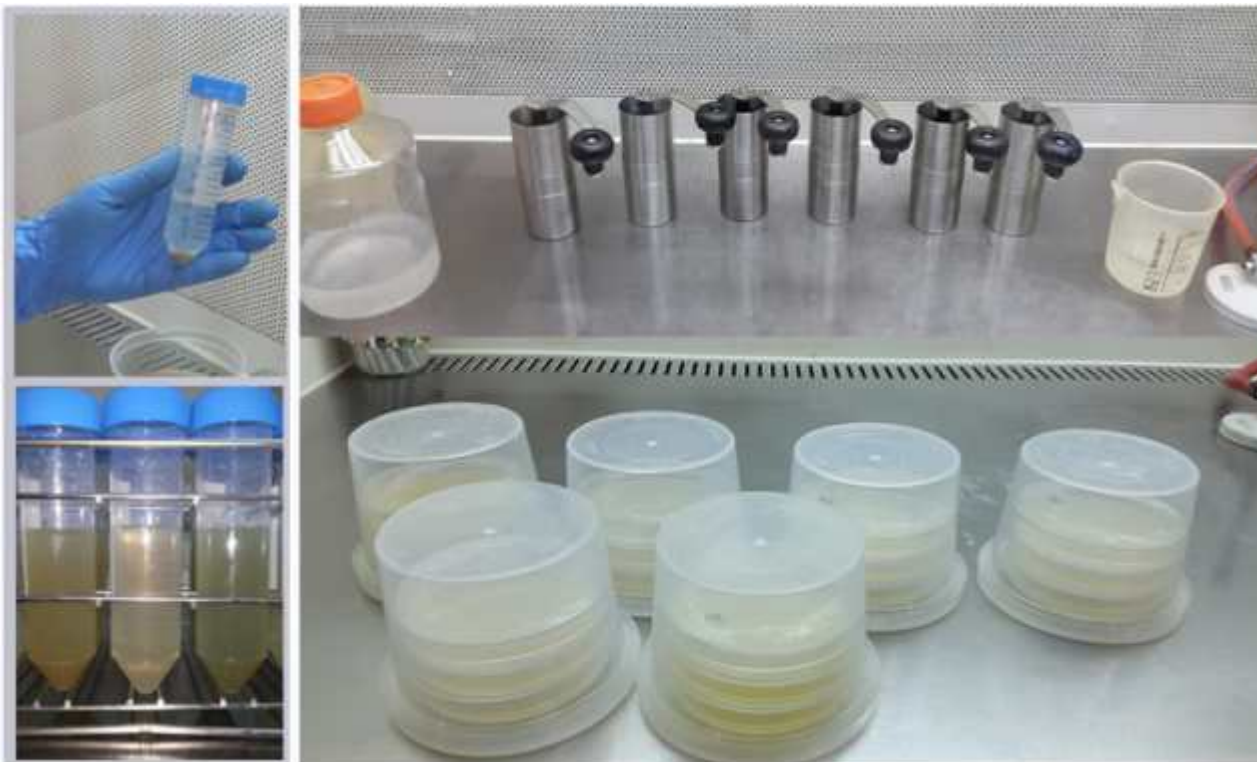


그림 59. 파프리카 소포자 나출 및 배양전경

- 유발 유봉을 이용한 마쇄에서는 소포자 획득 수율이 매우 낮았고(표 54, 그림 60), 비정상 소포자의 발생율도 높았다. 그러나 Hand blender를 이용한 blending and vortexing에서는 소포자 획득수율이 매우 높았고, 정상 소포자 획득율도 높았다.

표 54. Microspore isolation 방법이 소포자 획득 수율에 미치는 영향

Isolation method	Normal microspore ^{y)}	Abnormal microspore ^{y)}	Density ^{z)}	Color
Maceration	++ ^{z)}	+++	++	Yellow
Blending/vortex	+++	++	++++	Yellow

^{y)} ++: 40% of total density, +++: 80% of total density

^{z)} ++: 5×10^4 ml/ml 미만, +++: 10×10^4 ml/ml, ++++: 20×10^4 ml/ml

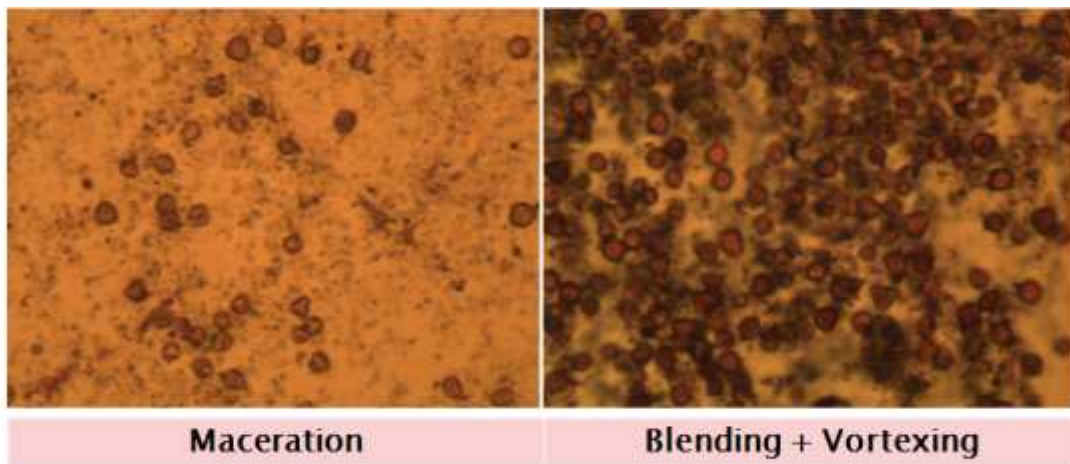


그림 60. Microspore isolation 방법에 따른 소포자 획득 수율

- Sieve pore size에 따른 소포자 획득수율을 조사하는 maceration으로 소포자를 추출한 처리구로 진행하였다. Sieve pore size는 $75+38\mu\text{m}$ 를 겹친 처리구와 $45\mu\text{m}$ 단 처리로 구분하였다. 이때 sieve를 두 개 처리한 구에서는 소포자 수율이 매우 낮았던 반면 $45\mu\text{m}$ Sieve만 단 처리한 구에서는 소포자 획득율이 매우 높았다(표 55). 이는 두 개의 Sieve를 이용하면서 소포자가 체에 걸러져 다량 소실되는 경향이였다. 그러나 $45\mu\text{m}$ 만을 이용할 경우 소포자 외의 식물세포 잔유물이 많이 존재하였다(그림 61).

표 55. Sieve pore size 및 sieve 수량이 소포자 획득 수율에 미치는 영향

Seiveing Size	Normal microspore ^{y)}	Abnormal microspore ^{y)}	Density	Color
$75+38\mu\text{m}$	++	+++	5×10^4 ml/ml	Yellow
$45\mu\text{m}$	+++	++	20×10^4 ml/ml	Yellow

^{y)} ++: 40% of total density, +++: 80% of total density

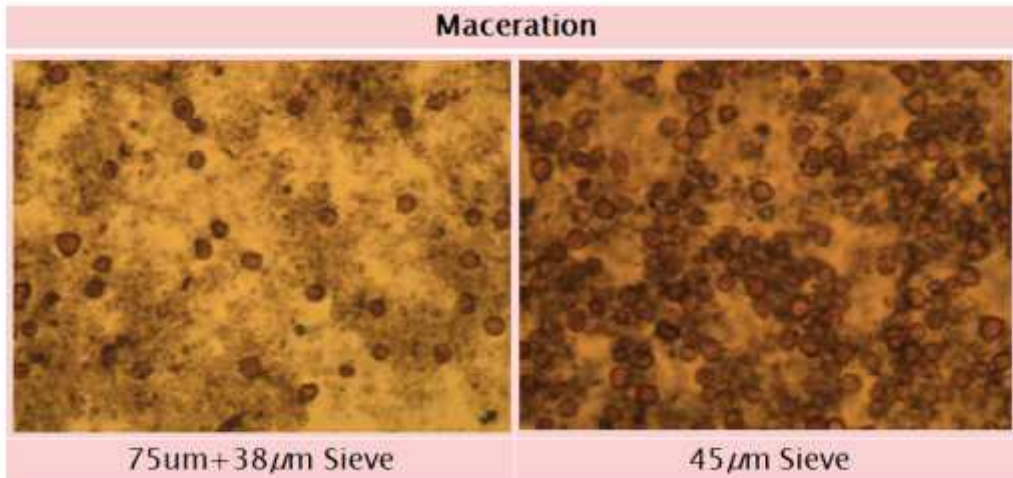


그림 61. Sieve pore size 및 sieve 수량이 소포자 획득에 미치는 영향

3. Ovule이 소포자 배양에서 오염에 미치는 영향

- 소포자 배양이 활발한 십자화과의 화퇴는 화판이 십자형태로 포합형을 이루고 있어 화퇴 내부가 무균상태를 유지하지만, 가지과 작물의 화퇴는 서로 맞닿은 형태로 약간만 압력이 가해져도 벌어져 오염율이 매우 높다.
- 파프리카 소포자 배양에서 오염을 낮추기 위하여 소독과정에서 petal과 anther만을 소독하는 방법과 화퇴 전체(petal+anther+ovule+calyx)를 소독하는 방법을 달리하여 약배양 및 소포자배양 에서의 오염을 비교하였다.
- 가지과 소포자 및 약배양에서는 오염방지를 위하여 항생제로 Cefotaxime 200 mg/L 처리하고 있어 항생제 대체제를 찾고자 항균효과 있으면서 불량환경에서 성장효율이 높은(특허번호1003407280000) Cinannom 100, 250, 500 mg/L을 이용하여 배양효율 및 오염도를 조사하였다.
- 보통 십자화과 작물의 소포자 배양 및 약배양에서는 오염으로 배양 자체가 어려운 문제는 발생하지 않으나, 고추 및 파프리카는 화퇴 구조가 꽃잎이 서로 맞닿는 형태로 살짝 벌어져 있는 형태(그림 62)로 쉽게 외부로부터 세균 및 곰팡이가 침투하여 오염으로 배양자체가 불가능한 경우가 종종 발생된다.
- 기내배양에서 오염의 정도는 모본의 재배상태에 따라 영향을 받는다. 일반적으로 소포자 배양은 화퇴 전체를 소독하여 약만을 적출하여 배양하게 되며 고추, 파프리카는 보통 약 10~30%정도가 오염된다. 본 실험에서 전체 화퇴를 소독한 후 약과 Ovule를 분리하여 배양하였을 때 ovule 접종구는 100%가 오염되는 현상을 발견하였다. 그리하여 소포자 배양에서 시료 채취 시 화퇴 전체를 소독하는 방법과 Anther와 petal만을 적출하여 소독하는 방법으로 구분하여 소독을 실시하였다.
- 화퇴 전체를 소독한 처리구가 ovule과 꽃받침을 제거하고(그림 63) 치상한 처리구에 비하여 오염율이 현저히 높았다(표 56, 그림 64). 이는 파프리카 화퇴 구조가 만개되기 전에도 꽃잎

이 느슨한 상태로 화기 내에 무균상태를 유지할 수 없고, 주두와 Ovule은 외부로 open되어 있을 확률이 높아 ethanol 이나 sodium hypochlorite에 의한 멸균으로는 주두와 자방에 침투되어있는 균을 제거하기 어려웠다.

- 표 56과 같이 약과 꽃잎만을 소독할 경우 200개 dishes 처리에서 오염이 전혀 되지 않은 반면, 약+꽃잎+꽃받침+자방이 포함된 전체 화퇴를 소독할 경우 오염율이 매우 높아 배양 dish의 83%가 오염되었다.
- 자방, 주두가 외부로부터 오염되어있는 상태에서 전체 화퇴를 소독하여 마쇄 혹은 blending 하여 소포자를 획득한 경우 대부분이 오염되므로, 자방 및 꽃받침을 제거하고 소독하여 소포자를 획득하는 것이 오염율을 낮출 수 있는 하나의 방법으로 사료된다.



그림 62. 파프리카 화퇴구조 그림 63. 파프리카 화퇴(좌:Ovule, 꽃받침 제거, 우: 전체화퇴)

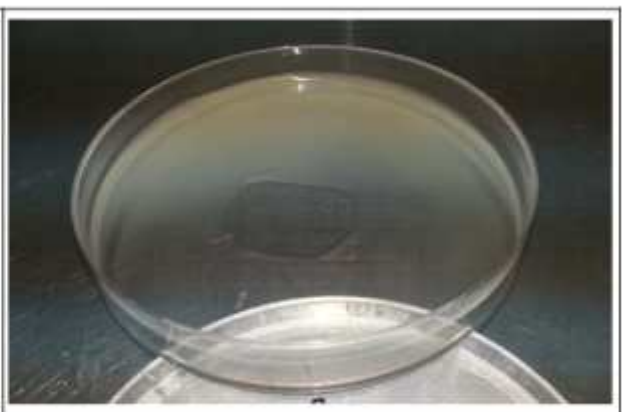
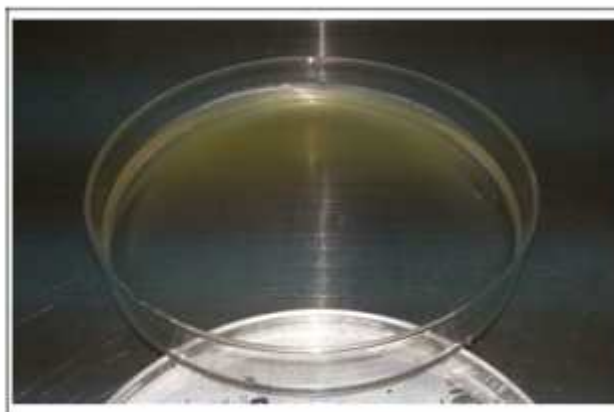


그림 64. 소포자나출 3일 후(좌:Ovule 제거 처리구-무균, 우: Ovule 포함처리구-오염)

표 56. 소독방법이 오염에 미치는 영향

소독방법	Microspore culture times(dishes)	Contamination	Ovule (dishes)	Contamination
Anther+petal	200	0(0%)	-	-
화퇴 (Anther+petal+Ovule+Calyx)	100	83	10	10(100%)

- 가지과 채소의 소포자 및 약배양에서 오염방지를 위하여 항생제로 Cefotaxime 200 mg/L 주로 처리하고 있으나, 항생제 사용 효과가 확실하지 않고, 사용량이 증가하면서 배양효율에 미칠 영향도 있으며, 가격도 비싸 항생제 대체제를 찾고자 항균효과 있으면서 불량환경에서 생장효율이 높은(특허번호1003407280000) Cinannom 100, 200, 500, 1000 mg/L 을 이용하여 배양효율 및 오염율을 조사하기 위하여 항생제 Cefortaxime 100, 200 mg/L과 Cinnamon 100, 250, 500 mg/L 처리하였다.
- 파프리카 소포자배양 및 약배양에서 화기구조에서 오는 오염을 증가를 방지를 위한 Cefotaxim과 Cinnamone 처리에서 Cefotaxim 100ppm 처리구는 무처리구와 비교하여 오염방지 효과를 보여주지 못하였으나, 200ppm 처리구에서는 오염을 경감효과가 있었고, Cinnamon 250ppm과 500ppm처리에서 탁월한 오염 방지효과를 관찰할 수 있었다. 배발생율은 오염율이 높았던 처리구에서는 배발생 약을 관찰할 수 없었으나, 오염율이 낮았던 cinnanon 250ppm 처리구에서는 오염율도 낮추면서 배발생율도 높은 결과를 관찰할 수 있었다(표 57).

표 57. 항생제 및 천연 항균제 처리가 오염 및 배발생에 미치는 영향

	ppm	No. inoculum anther	No. Contamination	Contamination Ratio	No. Responed anther	Ratio (%)
Control	-	250	189	75.6%	0	0.0
Cefortaxim	100	250	192	76.8%	0	0.0
Cefortaxim	200	250	93	37.2%	0	0.0
Cinnamon	100	250	136	54.4%	1	0.4
Cinnamon	250	250	51	32.4%	3	1.2
Cinnamon	500	250	24	13.6%	0	0.0
		1,250	536	39.7%	4	0.26

4. 전처리 조건 및 배지

- 소포자 전처리시에는 소포자 밀도가 1mL에 약 2×10^5 이 되도록 hemocytometer를 사용하여 조정 한 후 87*15mm 배양접시에 7.5mL씩 분주하였다. 소포자 현탁액이 들어있는 배양접시는 배지가 증발하는 것을 막기 위하여 500mL phytohelth에 넣어 3일간 $32 \pm 1^\circ\text{C}$ 고온처리 하였다.
- 전처리배지는 sucrose를 첨가하지 않은 NLNS+0.37M mannitol과, NLNS+0.037M 배지를 이용하였다(표 58).

표 58. Modified NLN medium(NLNS)

Macro elements	KNO ₃	125.00mg/L
	KH ₂ PO ₄	125.00mg/L
	MgSO ₄	125.00mg/L
	Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	500.00mg/L
Micro elements	CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.025mg/L
	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.025mg/L
	FeNaEDTA	36.70mg/L
	H ₃ BO ₃	10.00mg/L
	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.25mg/L
	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	10.00mg/L
	KI	0.83mg/L
	Vitamins	D(+)-Biotine
Folic Acid		0.50mg/L
L=Glutamine		800.00mg/L
Gluthatione		30.00mg/L
Glycine		2.00mg/L
Myo-Inositol		100.00mg/L
Nicotinic Acid		5.00mg/L
Pyridoxine HCl		0.50mg/L
L-Serine		100.00mg/L
Thiamine HCl		0.50mg/L

○ 배양효율을 증진시키기 위하여 화뢰 채취 후 4°C 전처리와 소포자 나출 후 32°C 고온조건으로 전처리를 실시하였다. 화뢰 채취 직후 4°C 전처리는 1일, 3일 모두 특별한 cell division을 관찰할 수 없었으나 32°C 처리는 1일보다는 3일처리에서 cell division을 관찰할 수 있었고, 부분적으로 Globular shape를 형성하는 것을 관찰 할 수 있었다(표 59, 그림 65).

표 59. 전처리 조건이 소포자 분열에 미치는 영향

전처리배지	No. of inoculated Dishes	No. of embryos/plate	
		Cell division ^{v)}	Globular shape ^{z)}
4°C 1day	200	-	-
4°C 3days	200	-	-
32°C 1day	200	+	+
32°C 3days	200	++	++

-: No response, +: start division, ++: colony formation

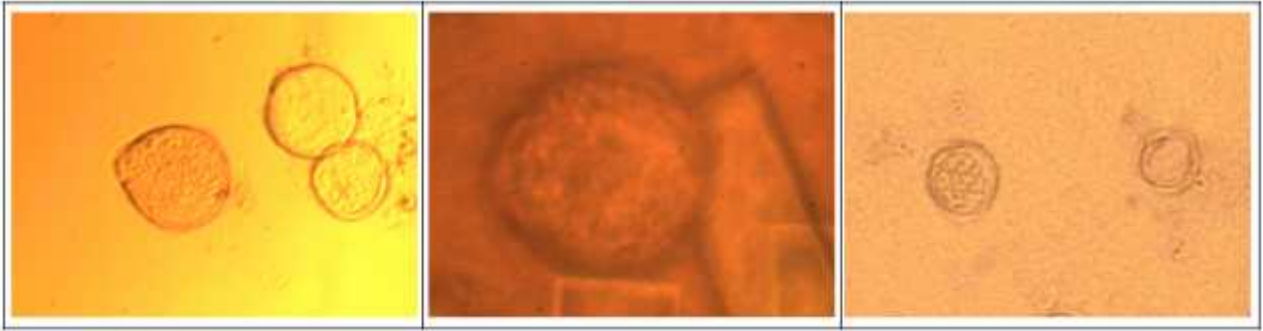


그림 65. 전처리 조건이 소포자 분열에 미치는 영향(32°C 3days처리후 배양 7일)

- 전처리 배지는 당을 첨가하지 않은 NLN배지에(KI 0.83 mg/L)첨가한 NLNS배지에 Mannitol 0.37M과 0.037M로 구분하여 처리하였다. Mannitol 0.37M 처리구에서는 cell division을 관찰할 수 없었고, 0.037M처리구에서 cell division이 관찰되었다(표 60).

표 60. 전처리배지의 Mannitol 농도가 소포자 cell division에 미치는 영향

전처리배지	No. of inoculated Dishes	No. of embryos/plate	
		Cell division	Globular shape
Mannitol 0.037M	200	++	+
Mannitol 0.37M	200	-	-

-: No response, +: start division, ++: colony formation

5. 모본의 유전자형 및 재배조건이 소포자 cell division에 미치는 영향

- 소포자 배양을 위한 모본의 양성은 충북 이월면 소재 7,000평 유리온실에서 재배되는 파프리카 F₁과 2013년, 2014년, 2015년, 2016년에 수집된 유전자원 및 경남농업기술원 의뢰품종을 분사 비닐온실에서 재배하였다. 4월부터 10월까지 배양을 진행하였다.
- 유리온실에서 재배되는 모본은 광량과 영양분을 충분히 받고 성장하였으며, 최저온도 19°C, 최고 30°C를 유지하면서 재배되었다. 비닐하우스의 재배조건은 겨울철 광량이 부족하고 습도가 높아 12월, 1월동안 낙뢰율이 높아 보광작업을 직행하였으나 2월초까지 화퇴 형성이 왕성하지 못하였다.
- 2월까지 배양한 결과를 살펴보면, 모본의 재배상태가 양호했던 유리온실에서 재배한 F₁의 cell division 율이 높았고, 비닐하우스에서 재배한 F₂는 화퇴 획득이 어려워 2월에만 배양하였으나 cell division을 관찰할 수 없었다(표 61).

표 61. 모본의 유전자형 및 재배조건이 소포자 cell division에 미치는 영향

전처리배지	No. of inoculated Dishes	No. of embryos/plate	
		Cell division	Globular shape
Glass house (F ₁ hybrid) PP house	400	++	+
(F _{1, 2} generation)	100	-	-

-: No response, +: start division, ++: colony formation



그림 66. 파프리카 재배전경(좌상:유리온실, 좌하:1-2W 비닐하우스, 우:터널하우스)

6. 배양배지 및 식물생장조절물질

- 전처리가 끝난 소포자를 기본배지를 NLN 변형배지(표 58)와 Dumas De Vaulx's C 배지(표 62)를 이용하여 배발생에 미치는 영향을 조사하였다.
- 기본배지에 생장조절제 2,4-D, NAA, kinetin을 조합을 hormone free와 0.1ppm kinetin +2,4-D, 0.1ppm 2,4-D+NAA조합으로 배발생에 미치는 영향을 조사하였다. sucrose는 10%를 이용하였으며 모든 기초실험은 소포자 밀도 5×10^4 /mL로 조절하였다.

표 62. Dumas De Vaulx's C

Macro elements	KNO ₃	2,150.000mg/L
	NH ₄ NO ₃	1,238.000mg/L
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	412.000mg/L
	CaCl ₂ ·2H ₂ O	313.000mg/L
	KH ₂ PO ₄	142.000mg/L
	Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	50.000mg/L
	NaH ₂ PO ₄ ·2H ₂ O	42.900mg/L
	(NH ₄) ₂ SO ₄	34.000mg/L
For Chelate	KCl	7.000mg/L
	Na ₂ .EDTA	18.650mg/L
	FeSO ₄ ·7H ₂ O	13.900mg/L
Micro elements	MnSO ₄ ·H ₂ O	22.130mg/L
	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	3.625mg/L
	H ₃ BO ₃	3.150mg/L
	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.188mg/L
	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.016mg/L
	CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.016mg/L
	KI	0.695mg/L
	Vitamins	Myo-Inositol
Pyridoxine HCl		5.500mg/L
Nicotinic Acid		0.700mg/L
Thiamine HCl		0.600mg/L
Vitamed B ₁₂		0.030mg/L
D(+)-Biotine		0.005mg/L
Glycine		0.100mg/L
	Calcium Pantothanate	0.500mg/L

- 전처리 완료 후 소포자 배양 배지를 NLNS와 *Capcium annuum* 약배양 배지로 이용되는 Duma De Vaulx' C 배지를 이용하여 소포자의 배발생율을 관찰하였다. 소포자 배양에서는 약배양에 주로 사용되는 C 배지보다는 고추, 십자화과 소포자 배양에 이용되는 NLNS 배지에서 globular shape와 cell cluster가 다수 형성되었다(표 63).

표 63. 기본배지가 Globular shape 및 cell cluster 발생에 미치는 영향

Medium	Globular shape. Cell cluster/plate ^{y)}
NLNS	+++
Dumas De Vaulx' C	++

^{y)} ++: Cell cluster formation, +++: Cell cluster + Globular shape formation

- 기본배지 NLNS를 이용하여 식물생장호르몬의 종류 및 조합이 배발생에 미치는 영향을 조사하였다. 식물생장조절제를 고추 약배양에서 배발생 효율이 높았던 조합인 0.1ppm kinetin 과 2,4-D조합과 0.1ppm 2,4-D+NAA 조합을 이용하였다. 배발생 효율은 호르몬 처리구보다 호르몬을 사용하지 않았던 처리에서 배양효율이 높았다(표 64, 그림 67).

표 64. 식물생장호르몬의 종류 및 농도가 Globular shape 및 cell cluster 발생에 미치는 영향

Plant growth regulator	Globular shape. Cell cluster/plate ^{y)}
Hormone free	+++
0.1ppm Kinetin+2,4-D	++
0.1ppm 2,4-D+NAA	++

^{y)} ++: Cell cluster formation, +++: Cell cluster + Globular shape formation

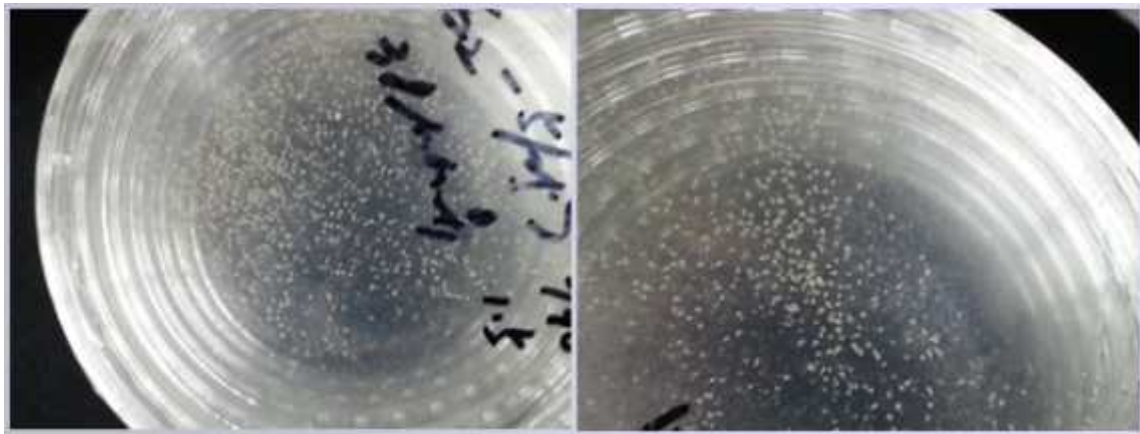


그림 67. 식물생장호르몬의 종류 및 농도(hormone free)

7. 소포자 치상방법 및 치상밀도

- 소포자 배양에서 소포자 나출을 위해 전처리 배지를 10mL 첨가하여 10초간 2회 blending 하였으며, 소포자 외의 질편체 제거를 위하여 메쉬의 크기가 75 μ m와 45 μ m인 채를 이용하여 크기가 큰 체 세포 조직파편들을 제거한 후 소포자 현탁액을 50mL centrifuge tube로 옮기고 전처리 배지를 첨가하여 30mL로 맞춘 후 1,000rpm에서 5분 동안 원심분리 하였다. 상등액을 제거하고 전처리 배지 30mL를 첨가하여 vortexing 한 후 900rpm에서 5분간 원심분리 하였다.
- 이와 같은 수세과정을 2회 실시하였다. 전처리가 끝난 소포자 현탁액은 50mL centrifuge tube에 수확하여 1,200rpm으로 5분간 원심분리하여 상등액을 버리고 16mL(소포자 밀도 10*10⁴mL/mL) 배양배지를 첨가하여 100*20mm 배양접시에 8mL씩 분주하였다.
- 전처리는 32°C에서 4일간 처리하였으며, 전처리가 끝난 소포자는 50mL centrifuge tube에 수확하여 1,200rpm으로 5분간 원심분리하여 상등액을 버리고 배양배지를 15mL첨가하여 60*15mm 배양접시에 옮겨 25°C에서 배양하며, 배형성유무를 관찰하였다. 전처리시 사용한 배지는 0.37M Mannitol이 첨가된 NLNS이며, 배양배지는 전처리배지와 동일한 성분에 10% sucrose를 첨가하여 사용하였다. 25°C로 옮긴 후 하루가 지나면 1.5mL배양배지를 첨가해주었다.
- 전처리 밀도 2x10⁵/mL에서 소포자 배양밀도는 1x10⁵, 5x10⁴, 3x10⁴/mL로 조절하여 소포자

밀도가 배발생에 미치는 영향을 조사하였다. 배양방법은 접종밀도 $1 \times 10^5/\text{mL}$ 에서 3일후 $5 \times 10^4/\text{mL}$ 로 조절하고, 다시 5일후 $3 \times 10^4/\text{mL}$ 로 조절하여 배양시기별 밀도를 낮추어 배양하였다.

- 접종 후 배양상태는 60rpm 교반, 정체배양 및 이중배양을 실시하였다. 모든 실험에 사용된 배지는 NLNS를 이용하였으며, sucrose는 10%를 첨가하였고, 이중배지의 하단배지는 sucrose 2%를 이용하였다.
- 전처리 농도($2 \times 10^5/\text{mL}$)에서 전처리 완료 후 배양배지로 이식할 때 소포자 밀도를 조절하였다.
- 고밀도 처리구($1 \times 10^5/\text{mL}$)에서 cell cluster 발생이 빠르게 진행되었다가 구형으로 진행되기 전에 사멸하는 현상이 발생되었고, 저밀도 처리구($3 \times 10^4/\text{mL}$)는 cell cluster 형성을 및 구형배 형성율도 낮았으나 세포 사멸율은 매우 낮은 편이었다.
- 밀도 $5 \times 10^4/\text{mL}$ 처리구에서는 Cell cluster 형성율이 가장 높았고, Globular shape로 진행되는 속도도 높았으며 사멸 속도는 고밀도 처리구와 저밀도 처리구의 중간의 속도로 진행되었다(표 65, 그림 68).
- 또한 $5 \times 10^4/\text{mL}$ 처리구에서 25°C 1일 배양 후 1.5mL 배양배지를 첨가해준 처리에서 배발생을 관찰할 수 있었다(그림 69).

표 65. 소포자 배양 밀도가 Globular shape 및 cell cluster 발생에 미치는 영향

Medium	Globular shape. Cell cluster/plate ^{y)}	Dead ratio
$1 \times 10^5/\text{ml}$	++	High
$5 \times 10^4/\text{ml}$	+++	Middle
$3 \times 10^4/\text{ml}$	++	low

^{y)} ++: Cell cluster formation, +++: Cell cluster + Globular shape formation



그림 68. 소포자 배양 밀도가 Globular shape 및 cell cluster 발생에 미치는 영향

- 소포자 배양 후 배양방법은 60rpm으로 지속적으로 교반해주는 방법과 1주일 교반 후 암상태 정체 배양하는 방법, 2중 배지를 이용한 정체배양 법으로 분리하여 실시하였다.

○ 본 실험에서는 정체배양과 2중배양중에서는 cell cluster 형성 및 구형배로 진행을 관찰할 수 없었고, 60rpm으로 지속적 교반 배양을 진행한 처리구에서 cell cluster 형성 및 구형배로 진행이 관찰되었다(표 66, 그림 68).



그림 69. 소포자 배양 유래 배발생

표 66. 소포자 배양방법이 Globular shape 및 cell cluster 발생에 미치는 영향

Culture methods	Globular shape. Cell cluster/plate
Agitation	+++
Staying	+
Two layer	+

^{y)} ++: Cell cluster formation, +++: Cell cluster + Globular shape formation

제 9 절. 조기 DH line 확보를 위한 약배양 기술 확립

- 조기에 DH line 확보를 위하여 약배양을 실시하였다. 약배양 배지는 Dumas De Vaux' C medium에 sucrose 3~4%, plant agar 및 phytage 0.3%를 첨가하였으며, 식물생장조절물질 Kinetin, 2,4-D, NAA의 농도 및 조합(표 67)을 작성하여 배발생에 미치는 영향을 조사하였다.
- 배발생유도를 위하여 32~35°C 인큐베이터를 이용하여 암상태로 2~8일 처리하였다. 처리 완료구는 25°C 암상태에서 배발생을 관찰하였다.

표 67. DH line 유기를 위한 배지의 식물생장조절물질의 종류 및 조합

Growth regulator Medium NO	Kinetin	2,4-D	NAA	비고
C1	0.01ppm	0.01ppm	-	=A
C2	0.1ppm	0.1ppm	-	=C
C3	-	0.01ppm	0.01ppm	
C4	-	0.1ppm	0.1ppm	
C5	-	0.1ppm		=B
C6	1.0ppm	1.0ppm		=D

- 조기 DH line을 확립하기 위해 전처리 온도조건을 30°C, 32°C로 하여 배발생 효과를 관찰하였다. 배양 배지는 Dumas De Vaulx' C medium에 sucrose 4%,phytagel 0.3%를 첨가하였으며, 전처리 완료구는 25°C 암상태에서 배발생을 관찰하였다. 배발생이 완료된 개체는 정상식물체 유도를 위하여 2,4-D를 제외하고 C기본배지에 sucrose 4%, phytage 0.3%, kinetin 0.1 ppm을 첨가한 배지로 옮겨 정상식물체를 유도하였다.
- 품종이 약배양 배형성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 전북농업기술원에서 TSWW저항성 품종으로 개발한 B2TS(발타사), P2TS(팔코)와 수입품종인 Red계열 나가노, Yellow계열 요리트, Orange계열 오렌지글로리를 대상으로 배발생 효과를 관찰하였다.
- 배양 배지는 Dumas De Vaulx' C medium(표 62)에 sucrose 4%, phytage 0.3%를 첨가하였으며, 전처리 완료구는 25°C 암상태에서 배발생을 관찰하였다. 배발생이 완료된 개체는 정상식물체 유도를 위하여 2,4-D를 제외하고 C기본배지에 sucrose 4%, phytage 0.3%, kinetin 0.1 ppm을 첨가한 배지로 옮겨 정상식물체를 유도하였다.
- 배발생이 완료된 개체는 정상식물체 유도를 위하여 2,4-D를 제외하고 C기본배지에 micro element와 vitamins가 변형된 배지에 kinetin 0.1ppm를 첨가한배지로 옮겨 정상 식물체로 유도하였다.
- DH line의 조기확보를 위하여 2015년 3월부터 11월까지 약배양을 실시하였다. 약배양 모본은 유리온실에 재식된 F₁ 품종, 2013년도 유전자원 수집 선발품종(CA1, CA7, CA8), 경남농업기술원 의뢰 계통을 이용하였고, 기본배지는 Dumas De Vaulx' C배지에 식물생장조절 물질을 표 68과 같이 처리하였다.

표 68. 조기 DH line 유기를 위한 약배양 배지 및 처리조건

Basic medium	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Dumas De Vaultx' C medium
Plant growth regulator	<ul style="list-style-type: none"> ▪ C1 = 0.01 ppm Kinetin and 2,4-D=A ▪ C2 = 0.1 ppm Kinetin and 2,4-D=C ▪ C3 = 0.01 ppm 2,4-D and NAA ▪ C4 = 0.1 ppm 2,4-D and NAA ▪ C5 = 0.1 ppm 2,4-D = B ▪ C6 = 1.0ppm kinetin and 2,4-D=D
Heat treatment	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 32~35°C 2, 5, 7, 8 days

- 약배양은 2차년도 12,300약을 치상하였고, 3차년도는 49,250약을 치상하였으며, 4차년도 26,116약을 치상하여 총 419개의 약으로부터 embryo 발생을 관찰할 수 있었다(표 69).
- 하나의 약으로부터 수십 개의 배로 발달하였고 각각의 배는 수십 개의 식물체로 분화하였다(그림 70).
- TSWV 저항성 품종을 이용한 B2TS(발타사)와 P2TS(팔코) F₂세대를 이용하여 유용유전자 유래 DH line 유도를 위한 실험을 실시하였다.

표 69. 2013년~2016년도 약배양

	No. of anthers	Responses anthers	Ratio
2차년도	12,300	64	0.52
3차년도	49,250	215	0.44
4차년도	24,500	132	0.66
유용유전자원	1,616	8	0.50
계	87,666	419	0.48

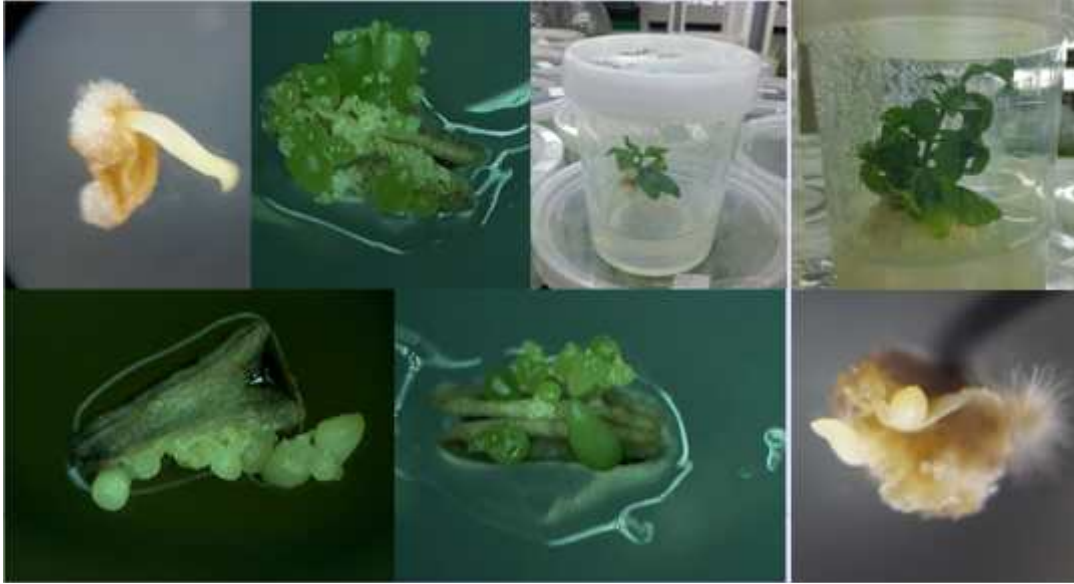


그림 70. 약배양으로부터 발달한 배 및 식물체

- 품종별 계통별 배발생율은 전체적으로 배양효율이 낮은 편이었으며 3차년도 유전자원 수집종에서 1.73%로 비교적 높게 나타났고(표 70), 4차년도는 전체적으로 배양효율은 3차년도와 비교하여 전체적으로 높은 배발생율을 보였다(표 71).
- 4차년도 재료 중 CA7은 수집 유전자원으로부터 자가교배를 통하여 선발된 자색계통(F₂)으로부터 유래된 것으로 4,90%의 매우 높은 배발생율 볼 수 있었다(표 71).
- 이는 재배조건, 재배시기와 연관이 있을 것으로 사료되며, 3차년도 F₁의 믹스종자에서 4차년도 Selfing F₂를 사용하면서 배발생율이 높았던 것으로 사료된다.

표 70. 3차년도 품종이 배발생에 미치는 영향

Variety		No. of anthers	Responses anthers	Ratio
Scirocco	Red	5,400	21	0.39
Coetti	Yellow	6,210	22	0.35
DSP7504	Orange	4,230	25	0.59
CA1	Orange	750	0	0.00
CA7	Mixed	750	13	1.73
CA8	Mixed	1,250	11	0.88
K1	Trirosso	2,040	7	0.30
K2	E499524	4,470	22	0.49
K3	Triyellow	5,490	4	0.07
K4	E499528	7,440	30	0.40
K5	Triora	4,500	18	0.40
K6	E499531	6,720	42	0.63
Total		42,530	173	0.44

표 71. 4차년도 품종이 배발생에 미치는 영향

Variety		No. of anthers	Responses anthers	Ratio
CA1	Organge	450	11	2.44
CA7	Mixed Purple	1,000	49	4.90
CA8	Mixed Purple	2,850	38	1.33
CA15	Mixed	3,425	0	0.00
K1	Trirosso	2,575	11	0.43
K2	E499524	250	0	0.00
K3	Triyellow	1,400	3	0.21
K4	E499528	2,650	9	0.34
K5	Triora	525	2	0.38
K6	E499531	4,725	9	0.19
J64외	5품종	4,650	0	0.00
Total		19,850	132	0.54

- Dumas De Vault' C 배지에 식물생장 조절물질을 달리하여(표 69) 배발생에 미치는 영향을 조사하였다. 처리구별 배발생율은 식물생장조절제의 농도가 높은 배지(C2, C4, C5)에서 높은 배발생율을 보여주었고, 2,4-D와 NAA가 각 0.1ppm 첨가된 C4배지에서 0.83%로 배발생율이 가장 높았고, Kinetin, 2,4-D 0.1ppm 첨가된 C2배지 0.83%, 2,4-D만 0.1ppm 단독 처리한 C5 배지가 0.75%로 2,4-D가 단독 또는 NAA 혹은 Kinetin과 혼합 처리된 배지에서 배발생 효율이 높았다(표 72).
- 반면 2,4-D와 kinetin을 고농도(1.0ppm)처리구와 2,4-D+NAA 저농도 처리구(C3)에서는 배발생을 관찰할 수 없었다(표 72).

표 72. 식물생장조절물질이 배발생에 미치는 영향(3~4년 통합)

Growth regulator	No. of anthers	Responses anthers	Ratio
C1	1,690	1	0.06
C2	8,230	68	0.83
C3	1,405	0	0.00
C4	15,335	131	0.85
C5	400	3	0.75
C6	391	0	0.00
Total	27,060	203	0.74

- 소포자 배발생 효율을 증진시키기 위하여 약 접종 후 30~35℃ 고온처리를 실시하였다. 3 5℃처리는 접종 후 2일, 5일, 8일, 10일처리 하였다. 배발생율은 2일 0.64%, 8일 0.73%로 5 일처리보다는 2일 혹은 8일 처리가 효과적이었다(표 71).

표 73. 35°C 처리가 배발생에 미치는 영향 (통합)

35°C Treatment	No. of anthers	Responses anthers	Ratio
2	13,050	84	0.64
5	16,225	35	0.22
8	17,095	125	0.73
10	4,140	11	0.27
Total	46,370	244	0.50

○ 전처리 온도를 30°C, 32°C로 달리하여 7일간 배양했을 때 30°C보다 32°C에서 약 3배가량 높은 배가 형성된 것을 관찰 할 수 있었다. 이는 같은 기간 전처리할 경우 온도를 높이는 것이 배형성에 더 효율적이었다(표 74).

표 74. 전처리 온도가 배발생에 미치는 영향

	No. of anthers	Responses anthers	Ratio
30°C	3255	4	0.12
32°C	2209	8	0.36

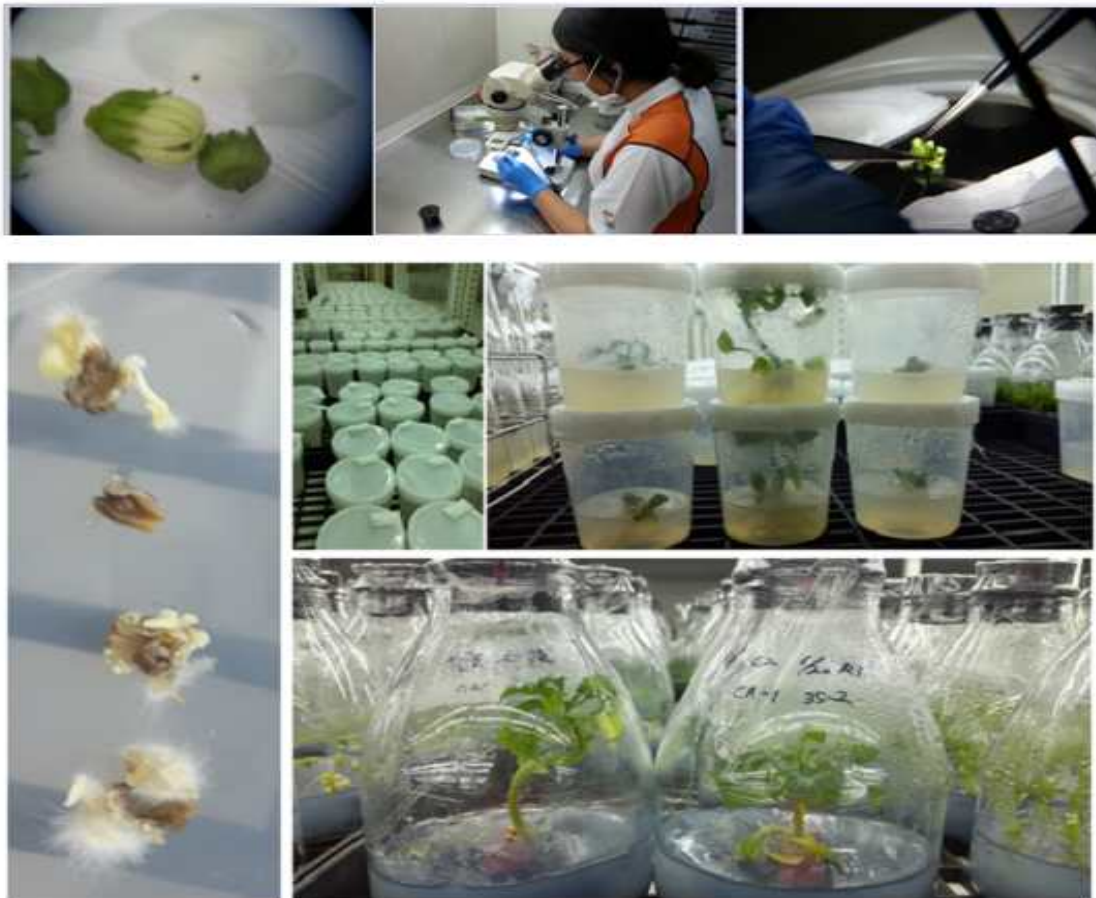


그림 71. 약배양 치상 및 배발생과 식물체 유기

제 10 절. 조기 DH line 확보를 위한 Shed culture

- 소포자 배양의 한 방법으로 좀 더 효과적인 배양방법을 모색하고자 Shed culture를 진행하였다.
- Shed culture는 고체배지에 액체배지를 첨가한 2중배지를 이용하여 약을 배양하는 방법으로(그림 72) 배양에 적합한 소포자 발달단계(1핵기 후반부터 2핵기 초반) 즉, 적당히 보라색으로 변한 Bud를 채취하였다.
- 전처리로는 시료 채취 후 4°C에서 1일~2일 냉장보관 후 사용하였다(4°C 1일과 2일 처리). Bud의 멸균은 2% NaOCl로 10분간 소독한 후 멸균수로 3-4회 수세한 후 사용하였다.
- Shed culture에 이용한 품종은 TSWV 저항성 품종은 발타사(B2TS)와 팔코(P2TS)와 나가노, 요리트, 오렌지글로리를 이용하였다(표 75). 재배법은 일반 파프리카 양액재배에 준하였다.
- Bud 접종 후 9°C에서 7일간 배양하였고, 9°C 처리 후 NN배지(표 76)를 2mL 첨가하여 28°C에서 배양하며 배형성유무를 관찰하였다.
- 전처리와 배양배지 모두 NN배지에 2% maltose를 첨가하여 사용하였으며, 고체배지에는 2% maltose를 첨가한 NN배지에 1% charcoal과 0.4% phytigel을 첨가해주었다.

표 75. 품종별 Shed culture에 사용된 buds 현황

품종	No. of anthers
B2TS	54
P2TS	346
나가노	28
요리트	78
오렌지글로리	72

표 76. Modified NN medium(Nitsch & Nitsch medium) 배지조성표

Modified NN medium(Nitsch & Nitsch medium)		
Macro elements	NH ₄ NO ₃	720.00mg/L
	KNO ₃	950.00mg/L
	CaCl ₂ ·2H ₂ O	166.00mg/L
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	185.00mg/L
	KH ₂ PO ₄	68.00mg/L
Micro elements	H ₃ BO ₃	10.00mg/L
	MnSO ₄ ·4H ₂ O	25.00mg/L
	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	10.00mg/L
	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.25mg/L
	CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.025mg/L
	Na ₂ EDTA	37.3mg/L
	FeSO ₄ ·7H ₂ O	27.8mg/L
Vitamins	Inositol	100.00mg/L
	Glycine	2.00mg/L
	Thiamine HCl	0.5mg/L
	Pyridoxine HCl	0.5mg/L
	Nicotinic acid	5.00mg/L
	Biotin	0.05mg/L
	Folic acid	0.5mg/L

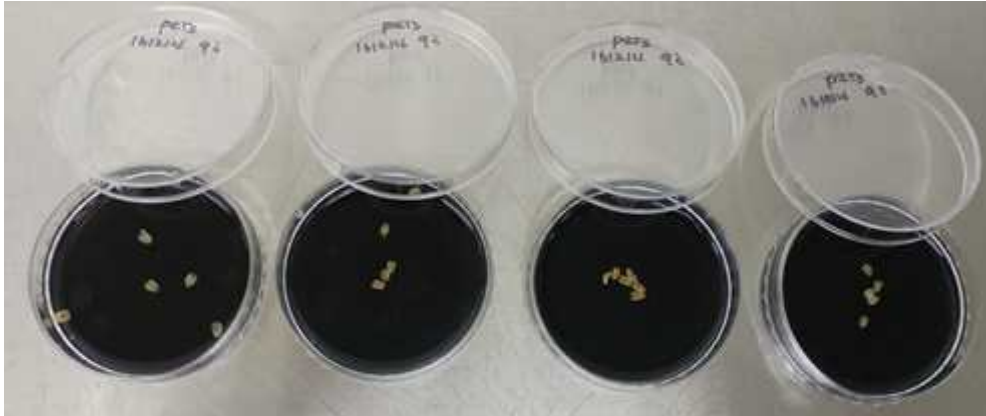


그림 72. 2중 배지(고체배지와 액체배지)에 접종된 Shed culture

- 약배양보다 배양작업이 편리하고 좀더 microspore의 나출을 용이하게 할 수 있는 Shed culture를 총 5품종을 이용하여 시도하였다.
- F2세대 B2TS(발타사)와 P2TS(팔코)품종으로 군산 파프리카 시험장에서 TSWV 저항성 품종으로 개발된 계통(그림 73) 등 총 5가지 품종(표 77)을 이용하였다.
- 접종은 화분발달 I~II stage을 선택하여 60*15mm petri-dish에 1bud 즉 5~6개의 약을 화사가 붙지 않도록 적출하여 접종하였다.



B2TS(발타사)품종



P2TS(팔코) 품종



유리하우스전경

그림 73. 우수품종 육종세대 단축을 위한 Shed culture 모본

표 77. 품종별 Shed culture에 사용된 buds 현황

품종	No. of anthers	Responded anther	Ratio(%)
B2TS(발타사)	54	5	9.3
P2TS(팔코)	346	0	0
나가노	28	0	0
요리트	78	0	0
오렌지글로리	72	0	0
계	506	5	0.87

- Shed culture는 4°C 전처리 후 접종 후 9°C 처리동안 자연스럽게 약 벽이 벌어지면서 소포자가 노출되게 된다.
- 이때 소포자위에 액체 배지를 첨가하여 28°C로 옮겨 줌으로 소포자의 배발생을 촉진시켜주는 과정으로 배양 4주가 경과하면서 소포자로부터 배가 발생하는 것을 관찰할 수 있었다.
- 발타사 외 5개 품종 578개의 약을 치상하였으나, 발타사에서 배발생을 관찰할 수 있었는데 54개의 Shed anther를 치상하여 5개 약으로부터 배발생이 관찰되었다(표 77, 그림 74).
- 이는 54개의 약으로부터 5개가 배발생 반응을 보인 것은 매우 높은 배발생율을 보였고(9.3%) 총 접종량 578개 대비 0.87%의 배발생을 보여 약배양의 0.5%보다 높은 배발생 효율을 보였다.
- 아직 Shed culture 배양방법에 대한 정확한 배양방법이 제시되지 않았지만, 4년차 마지막 연도에 시도된 연구로서 향후 배양방법, 품종별 검토를 통한다면, 소포자 배양과 함께 DH line 유기에 매우 효과적인 배양방법으로 발전시킬 수 있을 것으로 사료된다.



그림 74. Shed culture로 부터 발생한 배

제 11 절. 유기 식물체 순화율 향상을 위한 순화장치 개발

- 마이크로포닉 순화 시스템(Microponic Acclimatization System)을 이용한 조직배양 및 소포자 배양에서 대량 증식이 완료된 식물체를 대기의 습도조건 및 온실의 습도조건과 성공적으로 적응시킬 수 있도록 대량 순화장치를 개발하고자 하였다.
- 주지하는 바와 같이 식물의 세포 또는 조직 배양이란 다세포로 이루어진 식물의 기관, 조직 또는 세포 등을 식물체에서 적출, 분리하여 영양분이 들어있는 기내에서 배양하여, 캘러스(callus, 분열이 활발히 이루어지면서 기관이 형성되지 않은 조직으로 흔히 상처에서 형성되는 무정형성의 덩어리) 또는 단세포 집단을 유기시키거나 식물체 또는 기관을 캘러스, 세포 또는 원조직편 등에서 직접 분화시키는 일련의 조작을 일컫는 것으로 정의될 수 있다.
- 통상 식물 조직배양은 각종 영양분이 함유된 인공 배지를 유리 용기에 분주하거나, 광투과성은 유리보다 낮으나 가볍고 취급이 편리한 내열성의 폴리프로필렌(PP) 재질의 용기에 분주하여 고온 고압 살균하여 배양하였다.
- 유리 용기는 무게가 무겁고 깨지기 쉬워 취급에 세심한 주의를 기울여야 하며 가격이 비싼 단점이 있고 폴리프로필렌(PP)은 가벼워서 취급이 용이하지만 광투과성이 낮고 가격 또한 유리 용기와 같이 비싼 단점이 있어 유리 및 폴리프로필렌(PP) 용기의 사용은 종묘 생산 가격을 상승시키는 요인으로 작용하였다.
- 뿐만 아니라, 이러한 용기는 보다 효과적인 환기 횟수의 제공 및 경제적인 광양자속 밀도(PPF)의 제공이 어려워 배양식물에서 투명화 현상이 빈번히 발생하고, 기내 식물의 공변 세포의 발달 및 건물 중, 기외 생장 시 광합성에 영향을 미치는 클로로필 농도 등 기타 기관의 발달이 불완전한 상태로 이루어져 배양완료 후 포장에 정식하고자 할 때 기외 순화에서 고사율이 높아 직접 종묘 생산에 이용되는 비율이 매우 낮은 문제가 발생하고 있는 실정이다.
- 기내 식물의 생육은 배양실 내의 광도뿐만 아니라 배양병으로 투과되는 광량에 따라, 또한 배양기 내의 환기 횟수에 따라서 식물 생육에 커다란 차이를 보이고 있어 이러한 제 요인은 기내 식물의 종묘 생산의 성패를 좌우하는 요인으로 작용하고 있다.
- 따라서 보다 경제적으로 건전한 우량묘를 생산할 수 있는 생산체계를 확립할 필요성이 대두되고 있는 실정이다.
- 이와 같은 문제점을 보완하기 위하여 대한민국 등록특허공보 제0392515호(2003.7.23. 공고)에는 식물 조직배양과 수정재배를 이용한 기내 종묘 생산 방법 및 생산장치에 대한 기술이 개시되어 있다.
- 상기 등록특허공보 제0392515호에 개시된 마이크로 하이드로포닉 컬처 시스템(Microhydroponic culture system)을 이용한 기내 소식물체의 종묘 생산방법은, 소포자 배양 및 생장점 배양을 통하여 증식단계를 거쳐 최종 발근 및 순화 과정만을 남긴 소식물체의 멀티플 슈트(multiple shoots)를 마이크로 커팅(microcutting)하여 식물체 지지물에 치상하여 컬처박스로 이식하는 단계와, 상기 컬처박스로 이식한 소식물체를 온도 $24\pm 4^{\circ}\text{C}$, 광도(PPF) $110\sim 350\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, CO_2 $350\sim 2000$ ppm의 조건에서 산소와 배양액을 공급해 주며 상면부를 다

공성 랩으로 덮은 배양기(cultural box) 내에서 생육 중반기까지 배양하는 단계와, 상기 배양된 생육 중반기의 소식물체를 랩을 제거하고 광도 $350\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 에서 생육시켜 출하하는 단계로 구성되어있다.

- 식물 조직배양과 수경재배를 이용한 기내 종묘 생산 장치는 식물의 세포, 조직, 종자 및 완전한 식물체로부터 이들을 배양, 발아 및 번식시키는 상자형 배양기로서, 일측 몸체에 다수의 환기공이 형성되고 투광성이 높은 배양기(cultural box)와, 상기 배양기바닥으로부터 일정높이에 소식물체 치상을 위해 설치된 지지 매트와, 상기 배양기 바닥과 지지물 사이에 층만 되는 배양액과, 상기 배양기 상단부에 씌워지는 미세한 다공성의 밀리포어 랩(millipore wrap)커버와, 상기 배양기 일측에는 공기조절기와 공기 펌프가 구비되어 분배기를 통하여 배양액에 산소를 공급하고 온도를 일정하게 유지할 수 있도록 구성되어 있다(그림 75).
- 배양기 내의 배양액에 떠 있는 지지물은 십자모양의 칼집 내 절결부를 형성하여 작은 소식물체가 지지되어 생육될 수 있도록 되어 있다(그림 75).
- 상기와 같은 종묘 생산 방법 및 배양기를 통해서 소식물체의 발근, 생육, 순화에 적합한 배양액의 조건 및 배양 방법을 규명하여 양질의 우량묘를 생산할 수 있게 된다.
- 그러나, 증식, 발근 과정을 마친 소식물체는 포장에 정식되기 위하여 기외의 환경조건에 순화 시켜야 된다. 즉, 조직 배양 식물은 99%가 넘는 습도와 고농도의 영양분, 식물호르몬, 비타민, 심지어는 식물의 최종 대사물인 당분까지 공급되어 수동적으로 배양기 내의 양분을 흡수하여 성장한 식물로서, 공변세포 등의 식물체의 기관이 완전하게 발달되지 못한 불완전한 식물체로 배양병 밖으로 꺼냈을 때 적응, 즉 순화하지 못하고 많은 수의 식물이 고사하는 경우가 발생되어 조직배양에 의한 종묘 생산 자체를 어렵게 하기도 하는 것이다.
- 이에 본 발명은 조직배양에서 대량증식이 완료된 식물체를 대기의 습도조건 및 온실의 습도조건과 성공적으로 적응시키는 순화 시스템으로서 초본성, 목본성, 난류별 순화율이 낮아 산업적 이용에 한계가 있던 문제점을 해소하기 위하여 개발된 것이다.
- 즉, 본 발명은 마이크로포닉 순화 시스템(Microponic Acclimatization System)을 이용한 조직배양에서 대량 증식이 완료된 식물체를 대기의 습도조건 및 온실의 습도조건과 성공적으로 적응시킬 수 있도록 대량 순화시킬 수 있는 시설물을 제공하고자 하는 데 그 목적이 있는 것이다.
- 이를 위해, 발명은 마이크로포닉 순화 양산형 재배 시스템의 구조를 제공함에 있어서, 순화 시설 내의 베드구조물, 공기공급 수단, 습도조절 수단을 제공하는데 그 목적이 있다.
- 즉, 어린 식물 묘의 대량 육묘 및 순화를 위한 온도 및 습도 제어형구조물을 제공하고 있으며, 자연 회산을 통한 습도 하강을 위한 통기성 필름(타공부를 지닌 다공 필름의 피막재)으로 덮이는 비닐 격실과, 정식용 트레이(플러그트레이 또는 육묘상자)의 근권부(뿌리)에 공기 순환을 위한 공기 공급관과, 이 공기 공급관에서 토출된 공기를 트레이 하부로 확산키 위한 요흡형 하부구조의 베드 구조물 및 그 베드구조물로 이루어진 재배 시스템 1개 라인을 필요에 의해 구획화할 수 있는 가변 격막이 설치되는 구조를 제공하고 있다.
- 상기와 같은 목적을 달성하기 위한 본 발명은, 순화시설의 폐쇄된 외관을 형성하여 순화가 필요한 육묘에 필요한 재배 공간을 제공하는 시설하우스와, 상기 시설하우스 내에 배치되어 육묘가 식재된 플러그트레이를 안착시켜 각 플러그트레이 내 육묘의 근권부에 공기를 균일하게 공급할 수 있게 공기순환이 자유로울 수 있는 횡측으로 골판지 형태의 요흡 구조를 갖고 설치되는 순화베드, 상기 순화베드를 지지하는 지지프레임으로 구성된 재배베드부와,

상기 시설하우스 외부에서 내부로 공기를 이송 공급하여 순화베드의 요홈을 따라 공기를 공급할 수 있도록 순화베드 상에 배관되는 요홈 방향으로 하향 형성된 다수의 공기토출구가 구비된 호스 또는 파이프를 이루어진 공기 공급관을 포함하는 공기공급수단과, 상기 시설하우스의 외부를 감쌀 수 있게 덮어 줌에 따라 순화시설 내 습도가 자동으로 조절될 수 있도록 순화시설 내 습기가 천천히 외부로 방출되는 타공부를 가진 다공 필름의 피막재로 이루어진 습도조절수단과, 상기 순화시설 내의 온도와 습도의 조절을 위해 구비되는 환경센서를 포함하는 조직배양 식물체의 대량 순화시설을 제공함에 그 특징을 갖는다.

- 본 발명에 따르면, 상기 시설하우스 내부가 육묘의 생장기별로 육묘구역이 구획되는 가변 격실로 구성될 수 있도록 구역을 구획하는 스크린과 이를 작동 제어하는 제어모터로 이루어진 격막용 스크린 수단을 더 포함할 수 있다.
- 또한, 본 발명에 따르면, 상기 공기공급수단에는 순화시설 내에 공급되는 공기를 일정한 온도로 조절하여 필요로 하는 온도로 유지 공급할 수 있는 열교환기를 갖춘 항온챔버를 더 포함하는 것이 바람직하다.
- 또, 본 발명에 따르면, 상기 공기 공급관에는 가습 및 제습이 가능한 수분조절기가 연결 구성될 수 있다.
- 그리고, 본 발명에 따르면, 상기 순화시설 내로 물을 공급하여 분사할 수 있는 물공급관을 갖춘 물 공급 수단을 더 포함하는 것이 바람직하다.
- 본 발명에 따르면, 마이크로포닉 순화 시스템(Microponic Acclimatization System)을 이용한 조직배양에서 대량 증식이 완료된 식물체를 대기의 습도조건 및 온실의 습도조건과 성공적으로 적응시킬 수 있고, 생장기별로 시스템화를 통해서 대량 순화시킬 수 있는 효과가 있다.
- 또한, 본 발명에 따르면, 소량 다품종의 제품을 생산하기 위해 가변격실을 이용하여 구역별 환경 제어가 가능한 육묘 순화 시스템을 제공할 수 있는 효과가 있다.

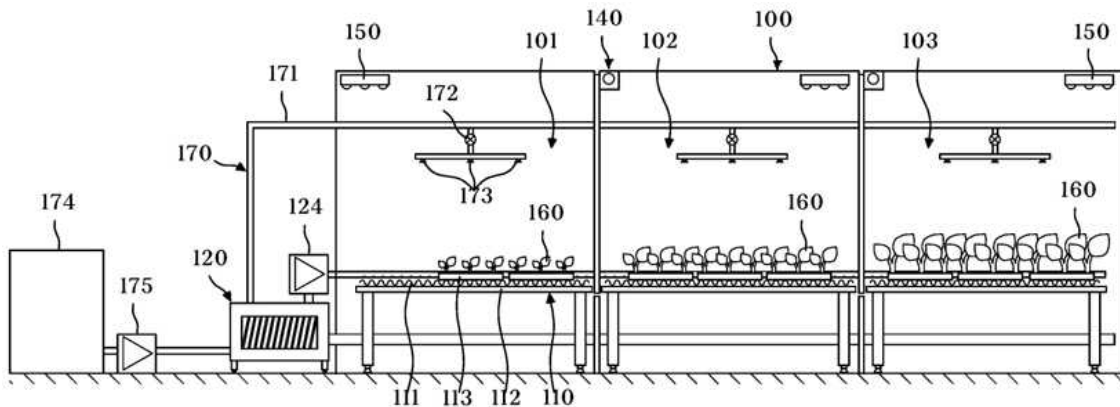


그림 75. 유기 식물체 순화율 향상을 위한 순화장치 모식도

제 12 절. 유기 DH line의 서비스 및 분양

- 약배양, 소포자배양, shed culture를 통하여 유기된 DH line을 기업체 및 기관에 분양하였다.
- 1차년도 및 2차년도는 조기 DH line 유도를 위한 약배양에서 유도된 기내 식물체를 품종 육성 재료로 총 31계통의 자원 분양하였다.
- 3차년도 67개 약으로부터 유래된 229개 식물체를 분양하였고, 4차년도에는 약배양, Shed cultur를 통하여 유기된 312약으로부터 유래된 677개의 식물체를 분양하였다.

표 78. 1, 2년차 자원분양

농업유전자원 분양신청목록						
① 일련 번호	② 자원 번호	③ 작물명(축종· 균주·곤충명)	④ 품종,자원명 (계통명)	⑤ 분양 수량	⑦ 사용 목적	⑧ 비고
1	-	파프리카	An-112-1	2bottles	품종육성	
2	-	파프리카	An-112-2	“	품종육성	
3	-	파프리카	An-112-3	“	품종육성	
4	-	파프리카	An-112-4	“	품종육성	
5	-	파프리카	An-112-5	“	품종육성	
6	-	파프리카	An-112-6	“	품종육성	
7	-	파프리카	An-112-7	“	품종육성	
8	-	파프리카	An-112-8	“	품종육성	
9	-	파프리카	An-112-9	“	품종육성	
10	-	파프리카	An-112-10	“	품종육성	

표 79. 약배양 유래 DH line 분양(3년차)

DH계통개발/자원분양							
구분	계통명	계통특성	기타	구분	계통명	계통특성	기타
14-1	An-112-1	ORANGE PRO F ₂ 유래	1PLANT/ IN VITRO	15-7	AN-106-7	ORANGE PRO F ₃ 유래	1PLANT/I N VITRO
14-2	An-112-2	“	“	15-8	AN-106-8	“	“
14-3	An-112-3	“	“	15-9	AN-106-9	“	“
14-4	An-112-4	“	“	15-10	AN-107-1	MAZZONA F ₁ 유래	“
14-5	An-112-5	“	“	15-11	AN-107-2	“	“
14-6	An-112-6	“	“	15-12	AN-107-3	“	“
14-7	An-112-7	“	“	15-13	AN-107-4	“	“
14-8	An-112-8	“	“	15-14	AN-107-5	“	“
14-9	An-112-9	“	“	15-15	AN-106-6	“	“
14-10	An-112-10	“	“	15-16	AN-106-7	“	“
15-1	AN-106-1	ORANGE PRO F ₃ 유래	“	15-17	AN-106-8	“	“
15-2	AN-106-2	“	“	15-18	AN-106-9	“	“
15-3	AN-106-3	“	“	15-19	AN-106-10	“	“
15-4	AN-106-4	“	“	15-20	AN-CA7-1	COLOUR SALAD MIXED “	“
15-5	AN-106-5	“	“	15-21	AN-CA7-2	“	“
15-6	AN-106-6	“	“	계		31	

표 80. 약배양 유래 DH line 분양(3년차)

DH계통개발				
구분	계통명	Anther/Embryo	Plantlet	기타
Sirocco	M101	12	24	1PLANT/IN VITRO
Coetti	M102	8	36	“
DSP7504	M103	18	89	“
CA7	M105	2	2	“
CA8	M106	5	25	“
계			176	“
K2	E499524	6	15	EX Vitro plant
K4	E499528	4	7	
K6	E499531	12	31	
계			53	
합계			229	“

표 81. 약배양 유래 DH line 분양(4년차)

계통명	계통수	식물체수	공급일
KR16-1	32	45	16.11.18
KR16-2	3	16	"
KR16-4	56	117	"
KR16-5	17	27	"
KR16-7	33	59	"
소계	141	264	
HK161	124	309	16.12.27
HK162	8	18	"
HK163	3	12	"
HK164	5	21	"
HK165	1	1	"
HKJul77	1	2	"
HK77-13	1	1	"
HK77-25	1	1	"
HKFeb78	1	1	"
HKp196D205	1	5	"
소계	146	371	
P2TS	8	15	17년 2월
B2TS	10	19	"
요리트외	7	8	"
소계	25	42	
합계	312	677	

제 13 절. 유전자원의 수집 및 분석

- 2013년 10월 뉴질랜드 및 호주, 2014년 2월 멕시코, 2015년 1월 미국을 방문하여 현지에서 유통되는 파프리카, 피망, 고추 등의 유전자원을 수집하였다.
- 뉴질랜드, 호주, 멕시코에서 수집된 종자는 현재 파종하여 특성조사를 실시하였고, 2015년 1월 미국에서 수집된 자원은 특성조사 및 분류하였다.
- 파프리카 소포자 배양 및 육종소재 개발을 위하여 2013년 10월에 호주, 뉴질랜드, 2014년 멕시코, 2015년 미국, 칠레, 아르헨티나, 터키를 방문하여 고추과 유전자원을 수집하였다. 수집된 유전자원은 소포자 배양 모본 및 육종소재 개발을 위하여 이용될 예정이다. 2013년에 수집된 유전자원은 2014년 파종하여 2015년에 특성 조사 및 배양재료로 이용하였다. 수집자원 중 Orange color의 CA1. Mixed color 중 Black color를 CA7, CA8로부터 F₂를 채종하였으며, 2015년 12월 파종하여 4차년도 배양재료로 이용하였다.



그림 76. 2014년 수집 유전자원

표 82. 수집 유전자원 특성표 (2014년도)

Entry	Crop name	Commercial name	Generation	Quantity	Company	Fruit colour	Origin
CA1	Capsicum annuum	Horizon Orange Capsicum annuum	F ₁	25 seeds	McGregor's	orange	New Zealand
CA2	Capsicum annuum	Sunbright Yellow Capsicum annuum	F ₁	25 seeds	McGregor's	yellow	New Zealand
CA3	Capsicum annuum	Californian Wonder Capsicum annuum	F ₁	100 seeds	Watkins	green to red	New Zealand
CA4	Capsicum annuum	Californian Wonder Capsicum annuum	F ₁	100 seeds	COUNTRY VALUE	green to red	Australia
CA5	Capsicum annuum	Sweet Delight Capsicum annuum	F ₁	75 seeds	COUNTRY VALUE	mix of red, green, yellow	Australia
CA6	Capsicum annuum	Giant Bell Capsicum annuum	F ₁	0.5g	Yates	green to red	Australia
CA7	Capsicum annuum	Colour Salad Selection Capsicum annuum	F ₁	0.3g	Yates	mix of red, green,yellow, purple	Australia
CA8	Capsicum annuum	Colour Spectrum Capsicum annuum	F ₁	50 seeds	Johnsons	mix of whole colours (red, green, yellow, purple, black...)	Australia
CA9	Capsicum annuum	Capsicum annuum	F ₁	0.3g*2	Rancho Los Molinos	orange, red	Mexico
CA10	Capsicum annuum	Capsicum annuum	F ₁	3g	Rancho Los Molinos	green to red	Mexico
CA11	Capsicum annuum	Capsicum annuum	F ₁	3g	Rancho Los Molinos	dark green	Mexico
CA12	Capsicum annuum	Capsicum annuum	F ₁	3g	Rancho Los Molinos	green to red	Mexico
CA13	Capsicum annuum	Capsicum annuum	F ₁	3g	Rancho Los Molinos	green to red	Mexico
CA14	Capsicum annuum	Capsicum annuum	F ₁	3g	Rancho Los Molinos	green to red	Mexico

표 83. 수집 유전자원 특성표 (2015년도)

Entry	Crop name	Commercial name	Generation	Quantity	Company	Fruit colour	Origin
CA15	Capsicum annuum	Capsicum annuum CARNIVAL BLEND	F ₁	400 mg	BURPEE	mixed	USA
CA16	Capsicum annuum	Capsicum annuum FORT KNOX HYBRID	F ₁	235 mg	BURPEE	yellow	USA
CA17	Capsicum annuum	Capsicum annuum LONG PEPPER BLEND	F ₁	200 mg	BURPEE	green to red	USA
CA18	Capsicum annuum	Capsicum annuum BABY BELL	F ₁	100 mg	RENEE	green to red	USA
CA19	Capsicum annuum	Capsicum annuum YUMMY BELLS	F ₁	110 mg	RENEE	orange	USA
CA20	Capsicum annuum	RENKLi DOLMA BiBER TOHUMU	F ₁	1Bag	Son Kullanma Tarihi	green, red, yellow	칠레
CA21	Capsicum annuum	CALIFORNIA WONDER	F ₁	1Bag	Semillas LAS ENCINAS	green	칠레
CA22	Capsicum annuum	AJI ROJO CACHO DE CABRA	F ₁	1Bag	Semillas LAS ENCINAS	red	칠레
CA23	Capsicum annuum	AJI BLANCO CRISTAL	F ₁	1Bag	Semillas LAS ENCINAS	yellow	칠레
CA24	Capsicum annuum	Palladio	F ₁	1Bag	Horti Tops	yellow	칠레
CA25	Capsicum annuum	PEPERONE CORNO GIALLO	F ₁	1Bag	Franchi	green to yellow	칠레
CA26	Capsicum annuum	PEPERONE GOCCIA D'ORO	F ₁	1Bag	Franchi	green to red	칠레
CA27	Capsicum annuum	MISTICANZA DI PEPERONI	F ₁	1Bag	Franchi	green, red, yellow	칠레



그림 77. 2015년 수집 유전자원



그림 78. 수집유전자원 품종특성 조사

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

구분 (연도)		평가의 착안점 및 기준	기여도 (%)	달성도 (%)
1 차 년 도 (2013)	○ 신제품 개발을 위한 품질 지표 확립 및 검정 기술 개발	▪ 파프리카의 화학적 품질 평가 지표로 카로티노이드의 정성, 정량 분석	70	100
		▪ 파프리카의 관능적 품질 평가 도구 개발	30	100
	○ 배발생 효율 향상을 위한 소포자 배양 기술 개발	▪ 소포자 나출방법, 치상밀도구명 ▪ Ovule이 소포자 배양에서 오염에 미치는 영향, 전처리조건 및 배지구명 ▪ 모본의 재배조건 및 유전자형이 소포자 배발생에 미치는 영향	90	100
	○ 유전자원 수집	▪ 유전자원 수집 및 분석	10	100
2 차 년 도 (2014)	○ 신제품 개발을 위한 품질 지표 확립 및 검정 기술 개발	▪ 파프리카유래 카로티노이드 분석 체계 확립 및 분석 적용	70	100
		▪ 파프리카의 관능적 품질 평가 도구 개발 및 적용	30	100
	○ 배발생 효율 향상을 위한 소포자 배양 기술 개발	▪ 배양배지가 소포자 배양에 미치는 영향 ▪ 식물생장조절제의 영향 ▪ 소포자 치상방법 및 밀도의 영향	60	100
	○ 조기 DH line 확보 위한 약배양 기술 개발	▪ 조기 DH Line 확보 위한 약배양 기술개발	30	100
	○ 유전자원 수집	▪ 유전자원의 수집 및 분석	10	100
3 차 년 도 (2015)	○ 신제품 개발을 위한 품질 지표 확립 및 검정 기술 개발	▪ 파프리카 유래 카로티노이드 분석 지원	50	100
		▪ 파프리카 유래 카로티노이드 분석 및 관능평가 위한 표준분석법 제시 및 적용 보완	50	100
	○ 배발생 효율 향상을 위한 소포자 배양 기술 개발	▪ 1,2차년도 선발조건 효율증대 ▪ 소포자유래 callus 및 ELS 정상식물체 유도조건 구명	40	100
	○ 조기 DH line 확보 위한 약배양 기술 개발	▪ DH Line 확보를 위한 약배양 ▪ DH line 육종소재 공급	30	100
	○ 유기 식물체 순화율 향상 위한 순화장치 개발	▪ Microponic 순화장치 개발	30	100
4 차 년 도 (2016)	○ 파프리카 품질 평가 SOP 보완 및 신제품에의 기술 적용	▪ 신제품 파프리카의 카로티노이드 분석 지원	70	100
		▪ 파프리카 색소 품질 평가위한 표준평가법 제시	30	100
	○ 배발생 효율 향상을 위한 소포자 배양 기술과 shed culture 기술 개발	▪ Co. shed-culture 조건구명 ▪ 치상, 배양방법, 배양조건구명	30	100
		▪ 품종별 소포자/약배양 조건확립	30	100
		▪ Microponic 순화장치 개발	20	100
○ 유유기 DH line 기업체 및 기관제공 서비스	▪ DH line 육종소재 공급	20	100	

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

1. 연구성과

가. 논문발표 및 게재

논문(국내외 전문학술지) 게재							
번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCI여부 (SCI/비SCI)
1	UPLC를 이용한 색상별 파프리카 유래 카로티노이드의 정량적 평가	한국식품과학회지	김선아	47(1)	국내	한국식품과학회	비SCI
2	파프리카 품종별 색상별 특성 비교를 위한 기기적, 관능적 품질 지표 평가	동아시아식생활학회지	김선아	26(1)	국내	동아시아식생활학회	비SCI
3	Carotenoid profiling from 27 types of paprika(Capsicum annuum L.) with different colors, shapes, and cultivation methods	Food Chemistry	김선아	15	국외	Elsevier	SCI
4	Optimization by response surface methodology of lutein recovery from paprika leaves using accelerated solvent extraction	Food Chemistry	김선아	150	국외	Elsevier	SCI

나. 학술대회발표

- Analysis and validation of capsanthin, main carotenoid in red paprika (Capsicum annuum), using UPLC system, 2014 한국대사체학회, 김선아 외 1인
- Quality Assesment of Fresh Paprika by Sensory Evaluation and Instrumental Analysis, 2014 춘계연합학술대회, 김선아 외 1인
- Opitimization of Capsanthin Extraction from Red Paprika Using ASE by Response Surface Methodology, 2015 KoSFoST, 김선아 외 1인
- Quality Aassessment of Fresh Paprika by Sensory Evaluation and Instrumental Analysis, 2015년도 춘계연합학술대회, 김선아 외 1인
- Analysis of Various Carotenoids from Different Colored Paprika Using UPLC and Optimization of Response Surface Methodology, RAFA 2015, 김선아 외 2인
- Optimization of Lutein Recovery from Paprika Leaves Using Accelerated Solvent Extraction by Response Surface Methodology, RAFA 2015, 김선아 외 4인

- Qualitative and Quantitative Analysis of Carotenoids and Anthocyanins in Purple Paprika (*Capsicum annuum* L.), 2016 춘계연합학술대회, 김선아 외 1인
- Red paprika (*Capsicum annuum* L.) and its main carotenoids, capsanthin and β -carotene, prevent hydrogen peroxide-induced inhibition of gap-junction intercellular communication, 2016 IUFoST, 김선아 외 1인
- 파프리카의 색상별 카로티노이드 조성 비교, 2016 (사)한국식품조리과학회 추계학술대회, 김선아 외 3인

다. 인력양성

- 황정록, 서울대학교 대학원 식품영양학과 석사 졸업(2014년 8월), UPLC를 이용한 카로티노이드 동시 분석법 확립 및 식품에의 적용(Method Development for the Analysis of Various Carotenoids Using UPLC and Quantitative Analysis in Foods)
- 강재현, 중앙대학교 대학원 식품영양학과 석사 졸업(2015년 2월), 파프리카 잎으로부터 가속용매추출 장치와 반응표면 분석법을 이용하여 lutein와 neoxanthin의 추출 최적화(Response Surface Methodology (RSM) to Optimize Accelerated Solvent Extraction (ASE) of lutein and neoxanthin in paprika leaves)

라. 특허출원 및 DH line 분양

특허출원			
번호	특허명	출원번호	출원일자
1	조식배양 식물체의 대량순화 시설물	10-2016-0168338	2016.12.12
자원분양 및 DH line 분양			
1	자원분양 : 약배양 유래 31계통		
2	DH line 분양 : 약배양 및 shed culture 296개로부터 유래된 541개 식물체 분양		

2. 활용계획

- 파프리카 유래 카로티노이드 표준분석법과 관능평가법을 활용하여 파프리카의 분자육종단계에서부터 소비자 유통에 이르는 전 과정에서의 품질관리를 위한 핵심 기술로 활용한다.
- 한국산 파프리카 신품종의 우수성을 알리고자 해외저명학술지에 한국산 파프리카 신품종 관련 논문을 지속적으로 투고·게재할 계획이다.
- 파프리카 유래 카로티노이드의 표준분석법과 관능평가법은 농업기술원, 종묘회사, 농협 등 직접적으로 신품종 개발과 관련된 업계, 학계, 연구기관으로부터 신품종 개발 및 육성에 따른 품질 평가를 지원한다.

- 종자 육종회사, 성분 분석팀 및 분자마커 연구소에 기술이전 및 육성소재 분양한다.
- 소포자 배양에서 빈번하게 발생하는 오염원인 해결로 배양효율 증진한다.
- 소포자 배양에 적합한 모본재배조건 구명으로 배양을 위한 재배관리 매뉴얼작성한다.
- Microspore culture 및 Shed culture배양방법의 육종소재 개발 시스템 확립한다.
- 수출용으로 특화된 품종 육성이 단기간에 완성되어 2021년 종자수출액 133만불 달성의 견인차 역할을 한다.
- 수입대체를 목표로 한 다양한 파프리카 품종육성 및 보급으로 자국 고유의 자원화한다.
- 파프리카 용도의 다양화로 농가소득향상 및 국민건강증진 한다.
- 유전자원 수집으로 육종소재 개발에 효과적으로 이용한다.
- 상기의 기술 확립을 토대로 2단계 GSP 가지과 채소 육종재료 신속 육성 및 보급체계 확립에 활용한다.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

- 제 7회 International Symposium on Recent Advances in Food Analysis(RAFA2015, 11월 2일~11월 6일, 체코)에 참석하여 UPLC를 활용한 파프리카 유래 카로티노이드 분석 및 반응표면분석법과 가속추출장치를 이용한 capsanthin 추출의 최적화(Analysis of various carotenoids from different colored paprika using UPLC and optimization of capsanthin extraction from red paprika using ASE by RSM)와 반응표면분석법과 가속용매추출기술을 활용하여 파프리카 잎으로부터 lutein 추출의 최적화(optimization of lutein recovery from paprika leaves using accelerated solvent extraction by response surface methodology)를 발표하였다.
- 최근 연구 동향을 보면 수확 후 품질관리, 고기능 농식품 소재 발굴, 분석기술의 진보에 따른 지속가능한 연구 환경 구축, 농식품 안전 및 보안 등을 중요한 이슈로 다루고 있으며 본 연구와 관련된 연구 동향을 살펴보면, 농산물에 함유된 고기능성의 카로티노이드류를 분리, 농축, 분석하고 소재화하거나 건강 증진 기능을 탐색하는 연구가 보고되고 있다.
- 특히 고온, 고압 조건에서 추출한 가능한 가압추출장치를 활용하고 반응표면분석법으로 설계한 실험조건에서 카로티노이드를 분리하는 추출 최적화 연구와 UPLC를 이용하여 소량의 시료로 빠르고 정확하게 다양한 카로티노이드를 명확하게 분리, 분석하는 연구가 다수 발표되고 있다.
- 본 과제의 연구결과는 국제수준에 부합하는 것으로 사료되며 이는 파프리카 품종 육성 및 카로티노이드를 주요 품질 지표로 하는 작물에 기술 적용 및 지원이 가능할 것으로 사료된다.
- Supena(2006a)등은 이층배지를 사용해 실험하는 shed-microspore culture 방법을 개발하였으며, 아래는 Nitch medium에 2% maltose와 0.5 또는 1% charcoal, 0.6% plant agar를 첨가한 고체배지를 위에는 Nitch medium에 2% maltose를 첨가한 액체배지를 사용하였다. pH는 5.8로 맞추고, 35*10mm petri-dish를 사용해, 고체배지는 1.5mL씩 분주하고, 액체배지는 1ml씩 분주하여 사용하였다. 사용한 꽃봉오리는 4°C에서 하루 보관한 후 사용하였으며, 소독은 2% NaOCl에 0.5% Tween 20을 첨가한 용액에 10분간 침지한 후 3번 멸균수로 수세하였다. 9°C에서 일주일간 배양한 후 28°C로 옮겨 8주정도 암배양한 후 배 관찰유무를 확인하였다. 결과 다양한 배를 많은 양 획득할 수 있었다.
- Lantos(2012)등은 microspore culture 실험에서 꽃봉오리 소독은 2% NaOCl에 Tween20을 한 방울 떨어뜨린 용액을 가지고 20분간 실시하였으며, 멸균수로 3회 수세하여 사용하였다. 봉오리에서 약을 떼어 200mg⁻¹ Cefotaxine, 0.3M mannitol을 배가 가장 많이 형성되는 B5 배지에 첨가하여 5mL씩 55mm petri-dish에 분주한 후 올려놓고 32°C에서 일주일간 암배양으로 고온처리 하였다. 유리막대로 약을 으개서 200 μ m mesh로 거른 후 원심분리하였다(Harms and Potrikus 1978). 9% maltose, 1g l⁻¹ glutamine, 0.5mg l⁻¹ kinetin, 0.5mg l⁻¹ 2,4-D로 이루어진 액체배지를 사용하여 소포자의 농도가 5*10⁴이 되게 한 후 35mm petri-dish에 1.5mL씩 분주하였다. 28°C에서 2달간 암배양하여 배를 관찰할 수 있었으며, 관찰된 배는 2% sucrose가 첨가된 1/2 MS배지에 옮겨 식물체로 성장시켰다.

- Samad(2011)등은 유채(*Brassica napus L.*)를 가지고 소포자 배양 실험을 실시하였다. 먼저 꽃봉오리를 3.5% NaOCl에 침지하여 15분간 표면살균하고 멸균수로 2회 수세하였다. 증류수 1L에 130g Sucrose가 들어간 washing액을 통해 5분간 blending하였으며, 이를 63 μ m mesh로 거른 후 1300rpm으로 5분간 2회 원심분리하였다. 이렇게 얻은 소포자들은 13% sucrose가 첨가된 NLN배지로 농도가 4×10^4 이 되게 한 후 multi-dish에 1.5mL씩 분주하여 32.5°C에서 24시간 전처리한 후 25°C로 옮겨 암배양 하였다. 그러면 3주 후 배가 육안으로 관찰된다 하였다.

제 7 장 참고문헌

- Aizawa, K., & Inakuma, T. (2009) Dietary capsanthin, the main carotenoid in paprika (*Capsicum annuum*), alters plasma high-density lipoprotein-cholesterol levels and hepatic gene expression in rats. *British Journal of Nutrition*, 102, 1760 - 1766.
- Aparicio-Ruiz, R., Mínguez-Mosquera, M. I., & Gandul-Rojas, B. (2011). Thermal degradation kinetics of lutein, β -carotene and β -cryptoxanthin in virgin olive oils. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24, 811 - 820.
- Bone, R., Landrum, J., Fernandez, L., & Tarsis, S. (1988). Analysis of the macular pigment by HPLC: retinal distribution and age study. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 29, 843 - 849.
- Box, G. E. P., & Wilson, K. B. (1951). On the experimental attainment of optimum conditions. *Journal of the Royal Statistical Society Series B (Methodological)*, 13, 1 - 45.
- Britton, G. (1976). Biosynthesis of carotenoids. In T. W. Goodwin (Ed.), *Chemistry and biochemistry of plant pigments* (pp. 304 - 305). New York: Academic Press.
- Campbell, S. E., Musich, P. R., Whaley, S. G., Stimmel, J. B., Leesnitzer, L. M., Dessus-Babus, S., Krishnan, K. (2009). Gamma tocopherol upregulates the expression of 15-S-HETE and induces growth arrest through a PPAR γ -dependent mechanism in PC-3 human prostate cancer cells. *Nutrition and Cancer*, 61, 649 - 662.
- Campbell, S. E., Stone, W. L., Whaley, S. G., Qui, M., & Krishnan, K. (2003). Gamma γ - tocopherol upregulates peroxisome proliferator activated receptor (PPAR) gamma (γ) expression in SW 480 human colon cancer cell lines. *BMC Cancer*, 3, 1 - 13.
- Cha, K. H., Kang, S. W., Kim, C. Y., Um, B. H., Na, Y. R., & Pan, C. H. (2010). Effect of pressurized liquids on extraction of antioxidants from *Chlorella vulgaris*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 4756 - 4761.
- Darrah, L. L., & McMullen, M. D. (2003). Corn: Chemistry and technology. In P. J. White & L. A. Johnson (Eds.), *Breeding, genetics, and seed corn production* (pp. 31 - 51). St. Paul, Minnesota: American Association of Cereal Chemists.
- Davies, B., Matthews, S., & Kirk, J. (1970). The nature and biosynthesis of the carotenoids of different colour varieties of *Capsicum annuum*. *Phytochemistry*, 9, 797 -

- Deli, J., & Molnár, P. (2002). Paprika carotenoids: analysis, isolation, structure elucidation. *Current Organic Chemistry*, 6, 1197 - 1219.
- Delia B. Rodriguez-Amaya, Mieko Kimura, (2004) *HarvestPlus Handbook for Carotenoid Analysis*, HarvestPlus technical monograph series.
- Dias, J. S. (1999). Effect of activated charcoal on *Brassica oleracea* microspore culture embryogenesis. *Euphytica*, 108, 65-69.
- Fu, W., Magnúsdóttir, M., Brynjólfson, S., Pálsson, B. Ø., & Paglia, G. (2012). UPLC-UV-MSE analysis for quantification and identification of major carotenoid and chlorophyll species in algae. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 404, 3145 - 3154.
- Gao, F., Walte, R. E. D., Karp, E. M., Luo, J., Tonkyn, R. G., Kwak, J. H., ... Peden, C. H. (2013). Structure - activity relationships in NH₃-SCR over Cu-SSZ-13 as probed by reaction kinetics and EPR studies. *Journal of Catalysis*, 300, 20 - 29.
- Granada, F., Olmedilla, B., & Blanco, I. (2003). Nutritional and clinical relevance of lutein in human health. *British Journal of Nutrition*, 90, 487 - 502.
- Guzman, I., Hamby, S., Romero, J., Bosland, P. W., & O'Connell, M. A. (2010). Variability of carotenoid biosynthesis in orange colored *Capsicum* spp. *Plant Science*, 179, 49 - 59.
- Hadjal, T., Dhuique-Mayer, C., Madani, K., Dornier, M., & Achir, N. (2013). Thermal degradation kinetics of xanthophylls from blood orange in model and real food systems. *Food Chemistry*, 138, 2442 - 2450.
- Handelman, G. J., Nightingale, Z. D., Lichtenstein, A. H., Schaefer, E. J., & Blumberg, J. B. (1999). Lutein and zeaxanthin concentrations in plasma after dietary supplementation with egg yolk. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 70, 247 - 251.
- Harms, C. T., Protrikus, I. (1978). Fractionation of plant protoplast types iso-osmotic density gradient centrifugation. *Theor Appl Genet*, 53, 57-63.
- Heo, J. Y., Kim, S., Kang, J. H., & Moon, B. (2014). Determination of lutein from green tea and green tea by-products using accelerated solvent extraction and UPLC. *Journal of Food Science*, 79, C816 - C821.

- Herrero, M., Castro-Puyana, M., Mendiola, J. A., & Ibañez, E. (2013). Compressed fluids for the extraction of bioactive compounds. *Trends in Analytical Chemistry*, 43, 67 - 83.
- Humphries, J. M., & Khachik, F. (2003). Distribution of lutein, zeaxanthin, and related geometrical isomers in fruit, vegetables, wheat, and pasta products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 1322 - 1327.
- Hussein, G., Sankawa, U., Goto, H., Matsumoto, K., & Watanabe, H. (2006). Astaxanthin, a carotenoid with potential in human health and nutrition. *Journal of Natural Products*, 69, 443 - 449.
- Hwang, J. R., Hwang, I. K., & Kim, S. (2015). Quantitative analysis of various carotenoids from different colored paprika using UPLC. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 47, 1 - 5.
- Jentzer, J., Alignan, M., Vaca-garcia, C., Rigal, L., & Vilarem, G. (2015). Response surface methodology to optimize accelerated solvent extraction of steviol glycosides from stevia rebaudiana bertonii leaves. *Food Chemistry*, 166, 561 - 567.
- Jeong, E., Kim, W., Kim, S., & Yun, S. (2008). The actual condition and subjects of paprika in Korea. *Research Report of Korea Rural Economic Institution*, C2008 - 22, 1 - 100.
- Johnson, K., & Record, S. W. (2014). Visual impairment and eye problems. In Ham's primary care geriatrics: A case-based approach (pp. 2 - 140). Elsevier Health Sciences.
- Kevrešan, Z. S., Mandić, A. P., Kuhajda, K. N., & Sakac, M. B. (2009). Carotenoid content in fresh and dry pepper (*Capsicum annuum* L.) fruits for paprika production. *Food Processing, Quality and Safety*, 36, 21 - 28.
- Kim, J. S., Ahn, J. Y., Ha, T. Y., Rhee, H. C., & Kim, S. (2011). Comparison of phytochemical and antioxidant activities in different color stages and varieties of paprika harvested in Korea. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 43, 564 - 569.
- Kim, J. S., Ahn, J., Lee, S. J., Moon, B., Ha, T. Y., & Kim, S. (2011). Phytochemicals and antioxidant activity of fruits and leaves of paprika (*Capsicum annuum* L., var.Special) cultivated in Korea. *Journal of Food Science*, 76, C193 - C198.
- Kim, M., Jang, I. C., Kim, J. A., Park, E. J., Yoon, M., Lee, Y. (2008). Embryogenesis and plant regeneration of hot pepper (*Capsicum annuum* L.) through isolated microspore culture. *Plant Cell Rep*, 27, 425-434.

- Kim, M., Park, E. J., Lee, Y.(2009). Increased embryo production by manipulation of plant treatment materials and media in isolated microspore culture of hot pepper(*Capsicum annuum* L.). In Kumar A, (eds) Application of plant biotechnology, The India, 89–105.
- Kim, S. A., & Kim, J. S. (2012). Method validation and quantification of lutein and zeaxanthin from green leafy vegetables using the UPLC system. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 44, 686 - 691.
- Krinsky, N. I., Landrum, J. T., & Bone, R. A. (2003). Biologic mechanisms of the protective role of lutein and zeaxanthin in the eye. *Annual Review of Nutrition*, 23, 171 - 201.
- Kukla-Koch, W., Aligiannis, N., Halabalaki, M., Skaltsounis, A. L., Glowniak, K., & Kalpoutzakis, E. (2013). Influence of extraction procedures on phenolic content and antioxidant activity of Cretan barberry herb. *Food Chemistry*, 138, 406 - 413.
- Lantos, C., Juhász, A. G., Somogyi, G., Ötvös, K., Vági, P., Mihály, R., Kristóf, Z., Somogyi, N., Pauk, J.(2009). Improvement of isolated microspore culture of pepper(*Capsicum annuum* L.) via co-culture with ovary tissues of pepper or wheat. *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 97(3), 285–293.
- Lantos, C., Juhász, A. G., Vági, P., Mihály, R., Kristóf, Z., Pauk, J.(2012). Androgenesis induction in microspore culture of sweet pepper(*Capsicum annuum* L.). *Plant Biotechnol Rep*, 6, 123–132.
- Lee, J. S., Park, E. J., Kim, M. Z.(2007). Influence of donor plant growth condition, microspore isolation method, culture medium, and light culture on the production of embryos in microspore culture of hot pepper(*Capsicum annuum* L.). *J. Plant Biotechnol*, Vol. 34, No. 4, 363–373.
- Liu, H., Zhang, Y., Li, Q., Zou, Y., Shao, J., & Lan, S. (2011). Quantification of lutein and zeaxanthin in marigold (*Tagetes erecta* L.) and poultry feed by ultra-performance liquid chromatography and high performance liquid chromatography. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 34, 2653 - 2663.
- Luthria, D. L. (2008). Influence of experimental conditions on the extraction of phenolic compounds from parsley (*Petroselinum crispum*) flakes using a pressurized liquid extractor. *Food Chemistry*, 107, 745 - 752.
- Ma, L., Dou, H. L., Wu, Y. Q., Huang, Y. M., Huang, Y. B., Xu, X. R., ... Lin, X. M. (2012). Lutein and zeaxanthin intake and the risk of age-related macular degeneration:

A systematic review and meta-analysis. *British Journal of Nutrition*, 107, 350 - 359.

- Maeda, H., Saito, S., Nakamura, N., & Maoka, T. (2013). Paprika pigments attenuate obesity-induced inflammation in 3T3-L1 adipocytes. *International Scholarly Research Notices Inflammation*, 2013, 1 - 9.
- Maoka, T., Enjo, F., Tokuda, H., & Nishino, H. (2004). Biological function and cancer prevention by paprika carotenoids. *Foods and Food Ingredients Journal of Japan*, 209, 203 - 210.
- Mehran, E. S., Ugur, B., Erwin, H. B., Alisher, T.(2006). Stresses applied for the re-programming of plant microspores towards in vitro embryogenesis. *Physiologia Plantarum*, Vol. 127, No. 4, 519-534.
- Moros, E., Darnoko, D., Cheryan, M., Perkins, E., & Jerrell, J. (2002). Analysis of xanthophylls in corn by HPLC. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 5787 - 5790.
- Murillo, E., Giuffrida, D., Menchaca, D., Dugo, P., Torre, G., Meléndez-Martinez, A. J., & Mondello, L. (2013). Native carotenoids composition of some tropical fruits. *Food Chemistry*, 140, 825 - 836.
- Nelis, H. J., & De Leenheer, A. (1991). Microbial sources of carotenoid pigments used in foods and feeds. *Journal of Applied Bacteriology*, 70, 181 - 191.
- Nieto-Sandoval, J. M., Fernandez-Lopez, J. A., Almela, L., & Munoz, J. A. (1999). Dependence between apparent color and extractable color in paprika. *Color Research & Application*, 24, 93 - 97.
- Niklowitz, P., Menke, T., Andler, W., & Okun, J. G. (2004). Simultaneous analysis of coenzyme Q10 in plasma, erythrocytes and platelets: Comparison of the antioxidant level in blood cells and their environment in healthy children and after oral supplementation in adults. *Croatica Chemica Acta*, 342, 219 - 226.
- Oh, S. H., Hwang, I. G., Kim, H. Y., Hwang, C. R., Park, S. M., Hwang, Y., Lee, J. S. (2011). Quality characteristics by particle size of red pepper powders for pepper paste and Kimchi. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 40, 725 - 730.
- Park, E. J., Kim, J. A.(2005). The influence of pretreatment period, 2-Hydroxynicotinic Acid and anther Co-pretreatment on embryo induction in isolated microspore culture of *Capsicum annum* L. *Korean J. Plant Biotechnol.*, Vol. 32, No. 1, 37-44.

- Park, E. J., Kim, J. A., Kim, M. Z.(2009). Influence of pretreatment medium, fresh medium addition, and culture plate size on the production of embryos in isolated microspore culture of hot pepper (*Capsicum annuum* L.). *J Plant Biotechnol*, Vol. 36, No. 2, 184–19.
- Parry, J., Su, L., Luther, M., Zhou, K., Yurawecz, M. P., Whittaker, P., & Yu, L. (2005). Fatty acid composition and antioxidant properties of cold-pressed marionberry, boysenberry, red raspberry, and blueberry seed oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 566 - 573.
- Peng, J., Yuan, J. P., Wu, C. F., & Wang, J. H. (2011). Fucoxanthin, a marine carotenoid present in brown seaweeds and diatoms: metabolism and bioactivities relevant to human health. *Marine Drugs*, 9, 1806 - 1828.
- Perry, A., Rasmussen, H., & Johnson, E. J. (2009). Xanthophyll (lutein, zeaxanthin) content in fruits, vegetables and corn and egg products. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22, 9 - 15.
- Plaza, M., Santoyo, S., Jaime, L., Avalo, B., Cifuentes, A., Reglero, G., ... Ibáñez, E. (2012). Comprehensive characterization of the functional activities of pressurized liquid and ultrasound-assisted extracts from *Chlorella vulgaris*. *LWT-Food Science and Technology*, 46, 245 - 253.
- Ravikumar, K., Ramalingam, S., Krishnan, S., & Balu, K. (2006). Application of response surface methodology to optimize the process variables for Reactive Red and Acid Brown dye removal using a novel adsorbent. *Dyes and Pigments*, 70, 18 - 26.
- Richter, B. E., Jones, B. A., Ezzell, J. L., & Porter, N. L. (1996). Accelerated solvent extraction: A technique for sample preparation. *Analytical Chemistry*, 68, 1033 - 1039.
- Rivera, S., & Canela-Garayoa, R. (2012). Analytical tools for the analysis of carotenoids in diverse materials. *Journal of Chromatography A*, 1224, 1 - 10.
- Rodríguez-Meizoso, I., Jaime, L., Santoyo, S., Cifuentes, A., García-Blairsy Reina, G., Senorans, F., & Ibáñez, E. (2008). Pressurized fluid extraction of bioactive compounds from *Phormidium* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 3517 - 3523.
- Saha, S., Walia, S., Kundu, A., Sharma, K., & Paul, R. K. (2015). Optimal extraction and fingerprinting of carotenoids by accelerated solvent extraction and liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 177, 369 - 375.

- Sajilata, M., Singhal, R., & Kamat, M. (2008). The carotenoid pigment zeaxanthin – a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 7, 29 - 49.
- Samad, H. A., Mehran, E. S., Reza, A., Mona, E., Mahnaz, O., Ghorbanali, N., Seyed, A. S. N., Erwin, H. B.(2011). Effect of 2,4-D as a Novel Inducer of Embryogenesis in Microspores of *Brassica napus* L. *Czech J. Genet. Plant Breed*, 47(3), 114-122.
- Sánchez, C., Baranda, A. B., & de Marañón, I. M. (2014). The effect of high pressure and high temperature processing on carotenoids and chlorophylls content in some vegetables. *Food Chemistry*, 163, 37 - 45.
- Sardare, M. M. D., & Admane, M. S. V. (2013). A review on plant without soil - hydroponics. *International Journal of Research in Engineering and Technology*, 2, 299 - 303.
- Schaffer, S., Müller, W. E., & Eckert, G. P. (2005). Tocotrienols: Constitutional effects in aging and disease. *Journal of Nutrition*, 135, 151 - 154.
- Serbinova, E. A., & Packer, L. (1994). Antioxidant properties of a α -tocopherol and a γ -tocotrienol. *Methods in Enzymology*, 234, 354 - 366.
- Shrestha, S. L., Luitel, B. P., & Kang, W. H. (2011). Heterosis and heterobeltiosis studies in sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 52, 278 - 283.
- Silva, L. R., Azevedo, J., Pereira, M. J., Valentao, P., & Andrade, P. B. (2013). Chemical assessment and antioxidant capacity of pepper (*Capsicum annuum* L.) seeds. *Food and Chemical Toxicology*, 53, 240 - 248.
- Simpson, K. L. (1983). Relative value of carotenoids as precursors of vitamin A. *Proceedings of the Nutrition Society*, 42, 7 - 17.
- Sinha, K., Chowdhury, S., Saha, P. D., & Datta, S. (2013). Modeling of microwave-assisted extraction of natural dye from seeds of *Bixa orellana* (Annatto) using response surface methodology (RSM) and artificial neural network (ANN). *Industrial Crops and Products*, 41, 165 - 171.
- Supena, E. D. J., Suharsono, S., Jacobsen, E., Custers, J. B. M.(2006a). Successful development of a shed-microspore culture protocol for doubled haploid production in

Indonesian hot peppers(*Capsicum annuum* L.). *Plant Cell, Rep*, 25, 1–10.

- Supena, E. D. J., Muswita, W., Suharsono, S., Custers, J. B. M.(2006b). Evaluation of crucial factors for implementing shed-microspore culture of Indonesian hot pepper(*Capsicum annuum* L.) cultivars. *Sci, Hortic*, 107, 226–232.
- Supena, E. D. J., Custers, J. B. M.(2011). Refinement of shed-microspore culture protocol to increase normal embryos production in hot pepper(*Capsicum annuum* L.). *Scientia Horticulturae*, 130, 769–774.
- Thorup, T., Tanyolac, B., Livingstone, K., Popovsky, S., Paran, I., & Jahn, M. (2000). Candidate gene analysis of organ pigmentation loci in the Solanaceae. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97, 11192 - 11197.
- Uchiyama, S., & Yamaguchi, M. (2006). Oral administration of b-cryptoxanthin prevents bone loss in ovariectomized rats. *International Journal of Molecular Medicine*, 17, 15 - 20.
- Vishwanathan, R., Neuringer, M., Max Snodderly, D., Schalch, W., & Johnson, E. J. (2013). Macular lutein and zeaxanthin are related to brain lutein and zeaxanthin in primates. *Nutritional Neuroscience*, 16, 21 - 29.
- Wang, T., Lia, H., Zhang, J.(2009). Initiation and development of microspore embryogenesis in recalcitrant purple flowering stalk (*Brassica campestris* ssp. *chinensis* var. *purpurea* Hort.) genotypes. *Scientia Horticulturae*, Vol. 121, 419–424.
- Xu, H., Sun, L. P., Shi, Y. Z., Wu, Y. H., Zhang, B., & Zha, D. Q. (2008). Optimization of cultivation conditions for extracellular polysaccharide and mycelium biomass by *Morchella esculenta* As51620. *Biochemical Engineering Journal*, 39, 66 - 73.
- Yamaguchi, M. (2012). Role of carotenoid b-cryptoxanthin in bone homeostasis. *Journal of Biomedical Science*, 19, 1 - 13.
- Zanfani, A., Corbini, G., La Rosa, C., & Dreassi, E. (2010). Antioxidant activity of tomato lipophilic extracts and interactions between carotenoids and [alpha]- tocopherol in synthetic mixtures. *LWT Food Science and Technology*, 43, 67 - 72.
- Zhao, Y., Chen, P., Lin, L., Harnly, J. M., Yu, L., & Li, Z. W. (2011). Tentative identification, quantitation and principal component analysis of green pu-erh green and white teas using UPLC/DAD/MS. *Food Chemistry*, 126, 1269 - 1277.
- Zhu, T., Heo, H. J., & Row, K. H. (2010). Optimization of crude polysaccharides

extraction from *Hizikia fusiformis* using response surface methodology. *Carbohydrate Polymers*, 82, 106 - 110.

- 은중선, 이광식, 윤여중.(1994) 고추 약배양에서 배지조성 및 온도처리와 품종에 따른 배발생 (胚發生) 및 식물체 분화율과 유전적 변이. *한국육종학회지*, 26권 4호. pp.353-362.
- 윤여중, 장상근, 이광식.(1991) 고추 약배양에 의한 식물체 유기. *한국원예학회지* 32권 1호 pp.8-16.

<붙임 1>

특허, 논문, 제품(시장) 분석보고서

세부프로젝트명	파프리카 육종재료 신속육성 및 보급체계 확립		
세부프로젝트 책임자	윤 여 중	프로젝트 연구기관	농업회사법인 (주)유니플랜텍

1. 본 연구관련 국내의 기술수준 비교

개발기술명	관련기술 최고보유국	현재 기술수준		기술개발 목표수준	비고
		우리나라	연구신청팀		
파프리카 소포자배양기술	헝가리	50	60	90	
소포자유래 식물 정상식물체 유기 및 순화기술	대한민국	90	90	100	

2. 특허분석

가. 특허분석 범위

대상국가	국내
특허 DB	특허정보원 DB(www.kipris.or.kr), Aureka DB
검색기간	최근 5년간
검색범위	파프리카 소포자 배양, 파프리카 약배양

나. 특허분석에 따른 본 연구과제와의 관련성

개발기술명	가지과 파프리카 육종 세대단축을 위한 소포자 배양기술 개발	소포자유래 식물 정상식물체 유기 및 순화기술
Keyword	파프리카 소포자 배양, 파프리카 약배양, 고추 소포자 배양	Acclimatization in vitro plants
검색건수	3건	4건
유효특허건수	3건	1건
핵심특허 및 관련성	특허명	소포자 배양 기술을 이용한 고추의 정상 배 생산방법
	보유국	대한민국
	등록년도	2007년
	관련성(%)	90%
	유사점	소포자 배양 기술을 이용한 정상배 생산방법
	차이점	파프리카 소포자 배양
		In vitro regeneration and acclimatization of oleaceaeplant
		대한민국
		2006년
		30%
		양배추 기내 재분화 및 순화
		소포자유래 ELS 및 calli 재분화 및 순화

- [파프리카] & [소포자 배양] 으로 검색한 결과 특허는 없었으며, [파프리카] & [약배양]으로 특허를 검색한 결과 또한 특허는 없었음. 같은 가지과 식물인 [고추] & [소포자 배양]으로 검색을 시도했으며 3건이 등록되었으며, 모두 파프리카 소포자 배양을 위해 필요한 내용과 일치했음.
- [순화] & [in vitro plant]로 검색한 결과, 배추과 식물에서 재분화 및 순화에 대한 특허가 검색되었으나 파프리카에 대한 특허는 없었음.

3. 논문분석

가. 논문분석 범위

대상국가	대한민국, 미국, 일본, 유럽
논문 DB	Aureka DB, pubmed DB(www.ncbi.nlm.nih.gov), 국회도서관(www.nanet.go.kr)
검색기간	최근 5년간
검색범위	소포자 배양, 파프리카, 약배양

나. 논문분석에 따른 본 연구과제와의 관련성

개발기술명		가지과 파프리카육종세대단축을 위한 소포자 기술 개발	소포자유래 식물 정상식물체 유기 및 순화기술
Keyword		paprika microspore culture, paprika anther culture, 고추 소포자 배양	Normal plant formation from microspore derived embryos
검색건수		51(국내), 149(국외)건	625건
유효논문건수		98건	5건
핵심논문 및 관련성	논문명	고추의 소포자 배양시 모식물의 생육조건, 소포자 나출방법, 치상배지 및 광배양이 배의 발생에 미치는 영향	High frequency plant regeneration from microspore-derived embryos of ornamental kale (Brassica oleracea L. var. acephala)
	학술지명	식물생명공학회지	Scientia Horticulturae
	저자	이종숙, 박은준, 김문자	Yushu Wang외
	게재년도	2007년	2011년
	관련성(%)	90%	40%
	유사점	소포자 배양관련 기술	Brassica 소포자유래 정상식물체 유기 및 순화
	차이점	Paprika 소포자 배양	Paprika 소포자유래 정상식물체 유기 및 순화

- [파프리카] & [소포자 배양] 또는 [약배양]으로 논문 검색을 수행한 결과, 소포자 배양과 약배양에 관한 논문은 많지만 파프리카에 관한 논문은 찾기 어려웠음. 그래서 유사한 [고추] & [소포자 배양]에 관한 논문을 검색하여 소포자 배양에 관련된 다양한 논문을 찾았으며, 이를 활용하여 파프리카에도 적용하려 했음.

- [소포자유래 식물체의 정상식물유기]로 검색한 결과 총 625건의 논문이 검색되었고, 유효건 수 5건으로 배추과 소포자 유래배의 정상식물체 유기에 대한 논문이 검색되었음. 고추, 파프리카의 소포자 배양에서 ELS 및 calli 유기에 대한 논문은 다수 검색되었지만, ELS 및 calli에서 정상식물체로의 분화율은 매우 낮아 파프리카 소포자 배양의 실용화를 위하여 ELS 및 calli의 정상식물체 유기효율을 높이는 것이 필요함.

4. 제품 및 시장 분석

가. 생산 및 시장현황

1) 국내 제품생산 및 시장 현황

- 파프리카는 우리나라에 도입된 지 약 20년에 불과하지만 농산물중 단일품목 수출액이 가장 큰 수출 전력품목으로 주목 받고 있다. 동시에 생산자에게 고소득 작목으로 인식되어 재배 면적이 크게 증가하고 있으며, 영양. 건강식품으로 알려지면서 국내 소비도 꾸준히 증가하고 있음.
- 파프리카는 1990년대 중반부터 일본 수출품목으로 급속히 성장하여 2015년 경기, 강원, 경남 및 전남 등지에서 영농조합 위주로 707ha의 면적에서 73,000여 톤이 생산되었고, 이중 29,400톤을 수출하여 8,500만 불의 소득을 얻어 수출주력 작물로 주목받고 있음.
- 국내에서는 생산비 부담, 재배불안정, 시세 변동 등 어려운 농업여건으로 안정적인 소득 창출을 이룰 수 있는 재배품목이 극히 한정되어 있는데 파프리카재배는 가장 높은 소득원으로 자리 잡고 있다. 그러나, 최근 일본 시장의 정체 및 국내 생산 단가의 상승으로 생산 및 수출이 정체 상태임.
 - 파프리카 수출액 : ('08)5,417 → ('09)5,328 → ('10)5,830 → ('11)6,590만\$ → ('15) 8,520만\$
- 파프리카는 2006년을 기준으로 국내 소비가 증가하고 있으며 수출의존도가 상대적으로 높았던 것이 이제는 전체 생산량의 60%이상이 국내에서 소비되고 있음. 그러나 다소 높은 단가로 인해 국내 소비층의 확대에는 한계요인이 되고 있음.
- 파프리카 국내 시장 규모는 약 1,000억원으로 추정되며 국내시장과 수출금액을 합하면 약 2,000억원에 이르는 고소득 작물로 성장하였음.
- 파프리카는 현재 여름작형은 강원, 전북, 경북, 경상외의 고랭지에서, 겨울작형은 경남, 전남 북, 경기, 충청의 유리온실에서 재배되고 있으며 겨울작형의 면적이 여름작형보다 약 2.2배 넓은 상태이며 최근에는 강원지역에서의 재배면적이 크게 증가하고 있음.
- 또한 유리온실이 아닌 비닐온실에 토양에서 파프리카를 재배하는 여름 토경 재배 작형이 급속히 증가하고 있어 파프리카의 생산이 더욱 증가할 것으로 예상되며 품질편차 또한 커질 것으로 사료됨.
- 국내에서 보급되는 파프리카의 재배 기술이 주로 겨울 작형에 맞춰져 있어 실제로 여름 작형 농가에서는 적용하기 어려움이 있으며 또한 여름 재배 기간 중 저일조, 고온, 다습 등의 지상 환경 요인에 따른 수분 관리의 어려움이 파프리카 고품질 다수확을 떨어뜨리는 요인

이 되고 있어 다양한 작형 및 국내 환경에 적합한 품종의 개발이 필요함. 실제로 해외 종자 회사들은 국내 환경에 적합한 품종을 공급하기 위해 주기적으로 신품종을 판매하고 있음.

표 1. 국내 파프리카 생산동향

구분	00년	08년	09년	10년	11년	12년	13년	14년	15년
재배면적(ha)	110	367	410	424	429	430	575	598	707
생산량(천톤)	8	33	36	41	43	50.6	62.6	64.3	73.0
수출량(천톤)	6.8	17.1	17.1	16.2	16.5	20.8	22.1	23.1	29.4
수출액(백만불)	23.6	54.2	53.3	58.3	65.9	88.8	87.0	79.6	85.2
내수(%)	9	48	51	60	62	59	65	64.1	59.7

자료 : 2015년 시설채소 온실현황 및 채소류 생산 실적, 무역통계

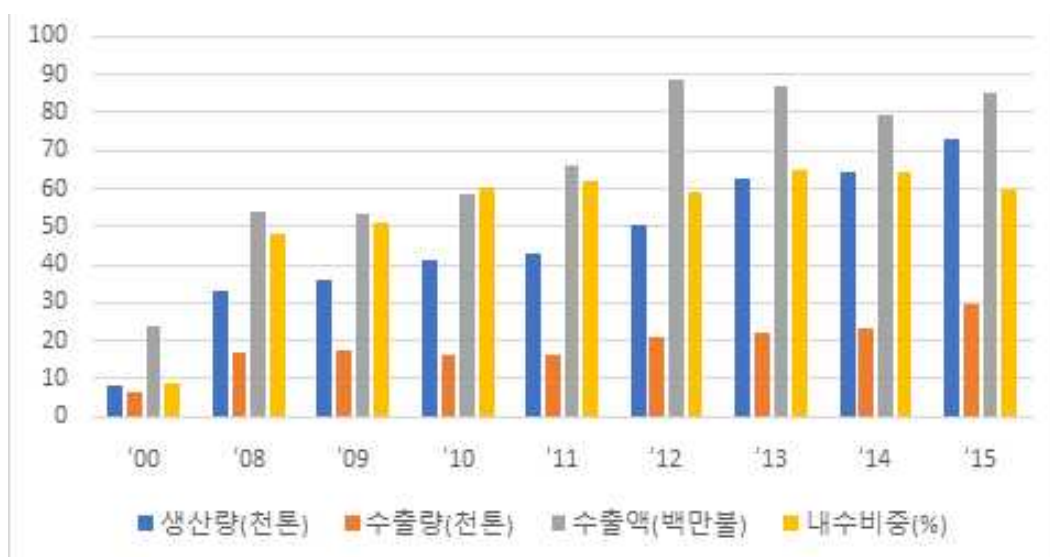
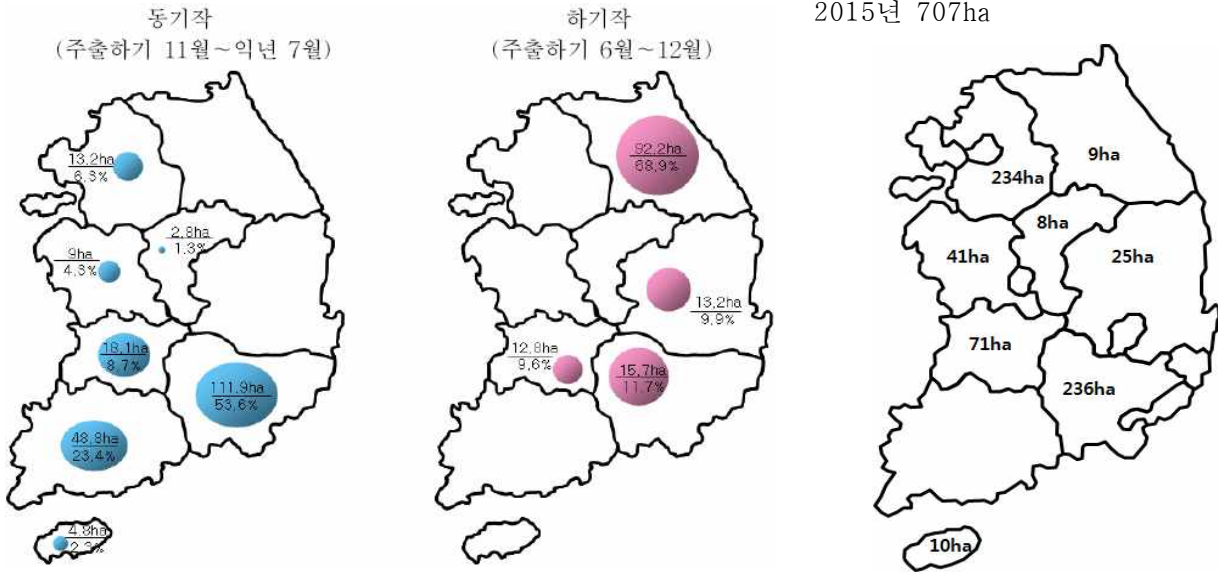


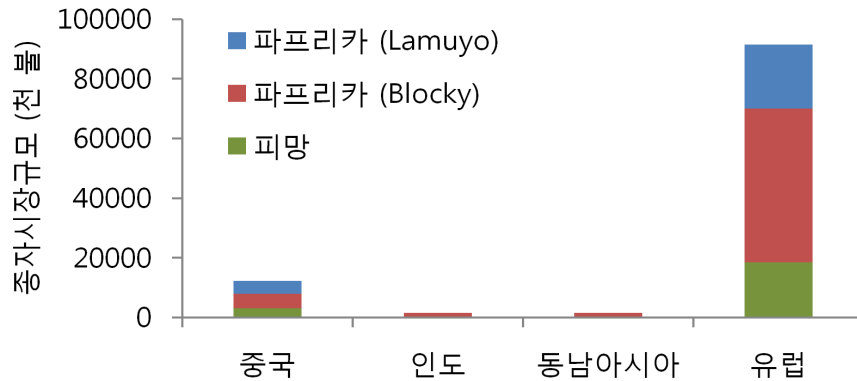
그림 1. 파프리카의 총 생산액 및 수출액



작형별/지역별 재배 면적(출처: 파프리카 산업의 현황과 과제, 농촌경제연구원)

2) 국외 제품생산 및 시장 현황

- 중국 파프리카 생산량은 관리 수준, 병충해, 날씨 등의 영향과 기술수준이 낮아 생산효율성이 떨어지는 편임. 파프리카 생산량은 2003년 12만 톤에서 2006년 17만 톤으로 연평균 9% 증가함. 그러나 중국 파프리카 시장은 초기에는 저가격의 제품을 선호하고 규모 또한 영세하였지만 향후 규모화 되면서 제품의 품질이 급속히 향상될 것으로 전망되고 있음.
- 유럽 파프리카는 대규모 재배단지에서 수출중심으로 생산되고 있어 내서성, 내한성의 제품을 생산하며 고가품목의 종자시장으로 다양한 품종들이 재배되고 있음. 유럽에서는 파프리카를 샐러드로 생식하거나 익혀 요리하여 이용함.
- 전 세계적으로 매운 고추의 재배면적이 단고추의 재배면적보다 월등히 많으나 종자의 부가가치는 단고추(파프리카 포함)가 훨씬 큼. 전 세계 고추 시장의 약 40%를 단고추가 차지하고 있으며, 북미, 유럽시장이 대부분을 차지하고 있음. 아시아 시장은 매운 고추가 85%, 단고추가 약 13%를 차지하고 있으나 단고추 재배면적이 해마다 증가하고 있음.
- 중국에는 유럽의 거의 모든 형태의 단고추가 보급되어 생산되고 있음. 하우스재배가 많으나 노지재배도 상당한 규모를 차지함.



나. 개발기술의 산업화 방향 및 기대효과

1) 산업화 방향(제품의 특징, 대상 등)

- 파프리카는 고소득 육종 작목이며 고품질의 제품생산으로 일본 시장을 중심으로 수출이 이루어지고 있음. 또한 전 세계적인 웰빙 트렌드와 함께 전 세계적으로 먹거리에 대한 관심이 증가하면서 식품의 기능적 측면이 매우 강조되고 있음. 파프리카는 타 작목에 비해 농약에 대한 우려가 적은 친환경 농산물로 인식되어 있으며 기능적 측면에서도 비타민과 미네랄 무기질 등이 풍부한 것으로 알려져 있음.
- 그러나 양질의 제품이 생산되어도 국내에서는 높은 가격으로 시장의 확대에 한계가 도달했으며 국외에서는 수출시 유럽이나 뉴질랜드의 제품보다 낮은 가격으로 판매가 되고 있음. 이는 고품질의 제품 생산도 중요하지만 그에 따른 품질의 우수성을 검증하고 국제시장에 적극적으로 홍보하는 것이 시급함.
- 파프리카는 풍부한 영양성분, 기능성분의 함유로 함량이 많아 노화방지, 항산화 기능 등으로 알려졌지만 아직까지 기능성 물질의 함량을 높힌 품종은 출시되지 않았음. 그러나 장기적인 소비자의 동향을 고려할 때, 경제적 수준이 높은 시장에서는 다국적 기업에 비교 경쟁우위를 점할 수 있으며, 이를 측정할 수 있는 객관적이고 신뢰할 수 있는 측정 기술이 필요함
- 우리나라 고추 유전자원 관리는 주로 국립농업유전자원 센터에서 담당하며 전 세계 112개 나라에서 도입한 9종의 *Capsicum* 속 식물 6,500여 점을 보유하고 있음. 매운맛 고추 육종에서의 경우와는 달리 파프리카 육종에서 중간모본이나 교배친으로 활용될 수 있는 단고추 유전자원이 선진국 종자회사에 비해 국내 종자 회사들의 보유량이 비교적 적음. 특정 형질에 대한 단고추 육종소재 확보는 주로 시판 파프리카 계통의 분리 세대로부터 이루어짐.
- 따라서 단기간 내에 원하는 특성을 파프리카 계통을 도입하기 위해서는 해당 특성 도입과정의 중간 단계에 해당하는 파프리카 중간 모본이 있으면 유리하나 우리나라의 경우 파프리카 품종 개발의 역사가 상대적으로 짧아 유용 특성에 대한 중간 모본 이상의 확보는 아직 부족함.
- 파프리카의 육종역사가 극히 짧은 우리나라는 시판 파프리카로부터 계통의 분리가 이루어져야하므로, 품종성의 육종연한 단축 기술인 소포자 배양 기술을 상업적 이용 가능한 기술

까지 개발시켜 Leading 품종, 목표형질별 소포자 유래 DH line의 확보 및 품종의 가치를 향상시켜야 함.

5. 3P(특허, 논문, 제품)분석을 통한 연구추진계획

가. 분석결과 향후 연구계획(특허, 논문, 제품 측면에서 연구방향 제시)

1) 특허분석 측면

- 기존 특허는 소포자 배양에서 ELS 및 Calli 유기 분야에 치중되어 있으므로, 본 연구과제에서는 정상배로 발생할 수 있는 embryo 발생율을 높일 수 있는 방향으로 연구를 추진하여 배발생율 대비 정상식물체 유기율을 대폭 향상시켜 특허 등을 국내 및 국외에 출원할 계획임
- 유기된 식물체는 하나의 소포자로부터 발생된 식물체로 유전적으로 유일의 특성을 가지고 있으며, 보통 소포자 배발생에 의한 식물체는 단 1개체만을 형성하는 특성이 있다. 그러나 종자형성과 DH라인의 다수 확보를 위해서는 하나의 DH line의 최소 채종 가능한 수량까지 동형질의 개체를 확보할 필요가 있어, 하나의 소포자유래 식물체의 최소 clone화가 이루어진다면, 소포자 유래 식물체의 DH line 유기가 보다 쉬워 채종까지 유전자원의 손실 없이 진행될 수 있다.

2) 논문분석 측면

- 소포자 배양 기술에 있어서 기존의 논문은 소포자 유래 ELS 및 calli 유기 분야에 치중되어 있으므로, 본 연구과제에서는 정상 embryo유기와 정상 식물체 유기효율을 증가시키는 방향으로 연구를 추진하여 실용적으로 육종에 활용될 수 있는 기술로 발전시키고 논문을 학술지 등에 게재할 계획임
- 소포자 유래 식물체의 순화 체계 확립이 미흡한 실정으로 소포자유래 식물체를 대량으로 생산하고 대량순화 할 수 있는 환경조건을 구명하고자 함.

3) 제품 및 시장분석 측면

- 국내 및 국외시장 분석결과 물리적 기준인 파프리카의 중량과 크기에 의해 제품의 등급을 나누어 판매가 이루어지고 있어 제품의 영양적, 기능적 측면에서의 차이점을 검증하지 못하고 있음. 따라서 제품 평가 기술의 확보를 통해 물리적 측면뿐만 아니라 화학적, 관능적 평가를 도입함으로써 고색소, 고비타민C 등 판매하는 제품을 다양화 할 수 있는 근거를 마련하는 방향으로 추진할 계획임.
- 국내 및 국외시장 분석결과 국내는 파프리카 재배면적은 급격히 증가하였으나, 대부분이 수입된 품종을 재배하는 실정임. 육종세대 단축을 위한 소포자 배양 고품질 파프리카 품종개발을 통한 수입 파프리카 품종 대체 및 해외 시장 개척을 위한 품종개발의 기반기술로서 Leading 품종 과 목표형질을 소포자 배양에 의하여 단기간 내에 고정하여 다량의 DH line 을 이용한 신품종 육성의 기반 기술을 제공함.

<붙임 2>

파프리카 유래 카로티노이드의 정성·정량 분석법

목 차

1. 파프리카 전처리 방법	143
1-1. 열풍건조법	143
1-2. 동결건조법	144
1-3. 분말 입자 제조	145
2. 카로티노이드 추출법	146
2-1. 일반 유기용매 추출법	146
2-2. 가속용매추출장치(ASE)를 이용한 추출법	147
2-3. 파프리카 추출물의 검화법	149
3. 캡산틴(적색파프리카) 신속 분석법	152
3-1. HPLC를 이용한 캡산틴 분석법	152
3-2. UPLC를 이용한 캡산틴 분석법	155
4. 루테인(파프리카잎) 신속 분석법	158
4-1. UPLC를 이용한 루테인 분석법	158
5. 파프리카 유래 카로티노이드 동시 분석	161
5-1. HPLC를 이용한 카로티노이드 9종 분석법	161
5-2. UPLC를 이용한 카로티노이드 12종 분석법	166

1. 파프리카 전처리 방법

1-1. 열풍건조법

1. 시험법 요약

본 실험법은 생 파프리카를 열풍건조기를 이용하여 수분을 제거하는 방법이다.

2. 장비와 재료

2.1. 장비

- 칼 또는 세분기
- 열풍건조기

3. 방법

3.1. 전처리

- ① 생 파프리카를 깨끗한 키친 타올로 물을 묻히지 않은 채 과피에 묻어있는 이물질 제거한다.
- ② 비가식부위인 꼭지, 씨, 태좌를 제거한 후, 과피를 잘게(2cm×2cm) 썰어둔다.

3.2. 건조 공정

- 열풍건조기 사용 예 (기기; 대원과학 Forced Convection Drying Oven)
- ① 열풍건조 기기의 온도를 45°C로 맞춘다.
- ② 온도에 도달하면 트레이를 꺼내어 잘게 다른 파프리카를 넓게 펼쳐 놓는다.
- ③ 14시간동안 건조한다.

3.3. 주의사항

- 열풍건조 시 온도를 60°C이상으로 계속 유지하면 색소 성분이 파괴되고 색상이 어두워질 수 있으니 주의한다.
- 바닥이 막혀있는 트레이와 같은 기구에 담아 열풍건조기에 넣었을 때에는 고루 공기가 통하도록 뒤집어준다.
- 건조가 종료된 후 열풍건조 기기의 내부를 당 성분이나 색소 성분이 남아있지 않게 깨끗이 닦아 기기를 정리한다.

1-2. 동결건조법

1. 시험법 요약

본 실험법은 생 파프리카를 동결건조기를 이용하여 수분을 제거하는 방법이다.

2. 장비와 재료

2.1. 장비

- 칼 또는 세분기
- 동결건조기

3. 방법

3.1. 전처리

- ① 생 파프리카를 깨끗한 키친 타올로 물을 묻히지 않은 채 과피에 묻어있는 이물질을 제거한다.
- ② 비가식부위인 꼭지, 씨, 태좌를 제거한 후, 잘게 썰어둔다.
- ③ 동결건조기 사용 시 잘게 썰어둔 파프리카를 -70°C 에서 얼려둔다.

3.2. 건조 공정

- 동결건조기 사용 예 (기기; iShin Freeze Dryer)
- ① 동결건조 기기의 냉각기를 가동시켜 기기 온도를 -50°C 까지 낮춘다.
- ② 동결건조 기기 온도가 낮아진 것을 확인 후 펌프를 가동시켜 압력을 7m Torr까지 낮춘다.
- ③ 압력 확인 후 시료를 동결건조기 사용 용기에 넣은 후 기기에 부착한 후 밸브를 “vent“에서 “dry“로 돌려 압력을 걸어준다.
- ④ 건조가 종료되면 용기가 부착된 밸브를 “vent“로 돌려 용기 내부의 압력을 제거 후 샘플을 수집한다.

3.3. 주의사항

- 건조가 종료된 후 동결건조 기기의 펌프를 끈 후 압력을 제거하고, 냉각기를 끈 후 내부의 과냉각된 얼음을 제거하여 기기를 정리한다.

1-3. 분말 입자 제조

1. 시험법 요약

본 실험법은 건조된 파프리카를 분석실험에 사용하기 위해 분말 제조하는 방법이다.

2. 장비와 재료

2.1. 장비

- 분쇄기(Food Mixer)
- 20 mesh 거름망(U.S. Standard No. 20 sieve)

3. 방법

- ① 건조가 완료된 파프리카 시료를 분쇄기로 분쇄한다.
단, 시료의 분쇄정도는 U.S. Standard No, 20 mesh 정도로 분쇄한다.
- ② 분쇄된 파프리카 시료는 수분 유입이 되지 않도록 잘 밀봉한다.
- ③ -18°C 냉동고에 빛을 차단하여 보관한다.

2. 카로티노이드 추출법

2-1. 일반 유기용매 추출법

1. 시험방법의 요약

본 추출법은 파프리카 건조시료를 이용하여 유기용매로 카로티노이드를 추출하는 방법이다.

2. 장비와 재료

2.1. 장비 및 소모품

- 저울
- Vortex
- 파이펫 (5mL, Ependorf)
- 뚜껑 있는 삼각플라스크 (500mL)
- 메스실린더 (500mL)
- 교반 배양기 (VS-8480SF, Vision scientific Co., Ltd. Korea)
- 원심분리기 (VS-5000N, Vision scientific Co., Ltd. Korea)

2.2. 일반시약

- 아세톤 (Acetone, Extra grade)

3. 방법

3.1. 추출

- ① 뚜껑이 있는 삼각플라스크에 약 2g의 파프리카 건조시료를 칭량한 후, 아세톤 20mL 을 첨가하여 혼합한다. 이하의 전 과정은 암소조건에서 진행한다.
- ② 시료와 아세톤 혼합액을 2분간 vortexing한 후, 20°C 교반 배양기에서 색소가 완전히 빠질 때까지 200 rpm으로 교반하여 색소를 추출한다.
- ③ 교반이 완료된 추출액은 건조시료와 아세톤층을 분리시키기 위하여 약 15분간 상온에서 정치하여 건조시료를 정치시킨 후 아세톤 추출액만 보관한다.

2-2. 가속용매추출장치(ASE)를 이용한 추출법

1. 시험방법의 요약

본 추출법은 파프리카 건조시료를 이용하여 가속용매추출장치(ASE)를 이용하여 신속추출방법이다.

2. 장비와 재료

2.1. 장비 및 소모품

- 저울
- Accelerated solvent extraction (ASE, Thermo Sci.)
- 22mL ASE cell
- Diatomaceous Earth(SiO₂)
- 27mm filter(Glass fiber, cellulose)
- ASE-Non-stick Thimble
- 질소농축장치(TurboVap, Biotage)
- N₂ gas(일반용)
- Clear collection vial with septa

2.2. 일반시약

- 아세톤 (Acetone, Extra grade)

3. 방법

3.1. ASE 기기 준비

- ① 카로티노이드 추출을 위한 ASE 표준 조건은 다음과 같다.

표 1. 카로티노이드 ASE 추출 조건

Oven temperature	100 °C
Static time	5 min
Flush volume	60 % of cell volume
Purge time	60 s
Static cycles	3
Pressure	1500psi

- ② ASE 기기 사용 전 용매병에 추출용매인 아세톤을 채우고 N₂ gas를 연결한 후 rinse 버튼을 눌러 기기를 추출용매로 세척한 후 온도를 맞추어 준다.

3.2. ASE 추출용 시료 준비

- ① ASE용 22mL cell의 아랫부분에 27mm filter 2장을 넣은 후 ASE Thimble에 분쇄된 파프리카 시료 약 1g과 SiO₂를 넣고 잘 혼합하여 ASE cell에 넣는다.
- ② 온도가 추출온도에 도달하면 collection vial을 장착하고 시료를 담은 22mL cell을 넣은 후 start 버튼을 눌러 추출한다.

- ③ 추출이 끝난 후 collection vial에 담긴 파프리카 추출액을 질소농축장치 (TurboVap)에 넣어 용매를 모두 날려 농축시켜 준비한다.

2-3. 파프리카 추출물의 검화법

1. 시험방법의 요약

본 추출법은 파프리카 추출액을 수산화칼륨으로 검화하여 지방산을 해리시켜 순수 카로티노이드 색소만 추출하는 방법이다.

2. 장비와 재료

2.1. 장비 및 소모품

- 저울
- 감압수기 또는
- 비이커
- 분획여두
- Vortex
- 파이펫 (5mL, Ependorf)
- 뚜껑있는 삼각플라스크 (500mL)
- 메스실린더 (500mL)
- 여과용 멤브레인 필터 및 디스크형 멤브레인 필터 (0.45 μ m 또는 0.22 μ m PVDF, Whatman, England)
- filter paper (Whatman No.2, England)
- 주사기 (syringe)
- 뚜껑 달린 LC용 바이얼 (Screw cap vial, 5182-0714, Agilent)
- 감압농축기 (Rotavapor R-200, Buchi, Postfach, Switzerland) 또는 질소농축장치 (TurboVap, Biotage)
- 0.45 μ L 또는 0.22 μ L PVDF syringe filter (Whatman, England)

2.2. 일반시약

- 아세톤 (Acetone, (U)HPLC grade)
- 디에틸 에테르 (Diethlyether, Extra grade)
- 메탄올 (Methanol, Extra grade, HPLC grade)
- 증류수 (Distilled water)
- 수산화칼륨 (Potassium hydroxide, KOH)
- 무수황산나트륨 (Sodium sulfate, Na₂SO₄)
- 염화나트륨 (Sodium chloride, NaCl)

3. 방법

3.1. 시약제조

- ① 30% 수산화칼륨/메탄올 용액: 저울에 30g의 수산화칼륨을 정확하게 칭량하여 메탄올 100mL에 섞은 후, 수산화칼륨이 모두 녹을 때까지 잘 섞는다. 메탄올 증발 방지 이유로 호일로 비이커 입구를 막을 경우, 섞는 동안 열이 발생하므로 입구를 완전히 봉하

지 않는다.

- ② 2% 황산나트륨 용액: 저울에 2g의 황산나트륨을 정확하게 칭량하고 증류수 100mL에 잘 혼합하여 녹인다. 실험 전까지 상온에서 보관한다.
- ③ 10% 염화나트륨 용액: 저울에 10g의 염화나트륨을 정확하게 칭량하고 증류수 100mL에 잘 혼합하여 녹인다. 실험 전까지 상온에서 보관한다.

3.2. 검화

1) 일반적 추출방법으로 추출한 경우

- ① 아세톤 추출액 10mL를 취하여 50mL 튜브에 넣고 동량의 메탄올과 함께 30% 수산화칼륨/메탄올 용액 2mL을 혼합하여 30°C 교반 배양기에서 하룻밤 방치하여 검화한다.
- ② 검화 종료 후 반응액을 분획여두에 옮긴 후, 20mL의 증류수를 첨가하고 디에틸에테르 20mL를 첨가하여 3회 정도 흔들어 잘 섞어준다.
- ③ 분획여두를 상온에서 약 10~15분간 정치하여 층을 분리한다.
- ④ 층분리된 시료의 상층액인 디에틸에테르층만을 분리하여 새 분획여두에 옮긴다.
- ⑤ 하층액은 색이 더 이상 용출되지 않을 때까지 디에틸에테르 20mL를 첨가하여 위의 과정을 반복하여 층을 분리한다. 약 3~5회 반복 수행한다.
- ⑥ 새 분획여두에 옮겨진 디에틸에테르층에 잔존하는 물층을 제거하기 위하여 2% Na_2SO_4 를 약 10mL 첨가하여 10분간 정치한다.
- ⑦ 층분리가 완료되면 하층액만 제거한 후, 다시 10% 염화나트륨 10mL를 첨가하여 정치한다.
- ⑧ 층분리가 완료되면 상층액인 디에틸에테르층만을 분리하여 감압수기에 옮겨 감압농축기로 디에틸에테르층을 모두 제거한다.

2) 가속용매추출장치(ASE)로 추출한 경우

- ① 용매를 모두 날린 농축시료에 아세톤과 메탄올을 각각 3mL씩 가하여 모두 녹인 후 30% 수산화칼륨/메탄올 용액 1mL을 혼합하여 실온에서 2시간 30분간 검화한다.
- ② 검화 종료 후 반응액을 분획여두에 옮긴 후, 2mL의 증류수를 첨가하고 디에틸에테르 20mL를 첨가하여 3회 정도 흔들어 잘 섞어준다.
- ③ 분획여두를 상온에서 약 10~15분간 정치하여 층을 분리한다.
- ④ 층 분리된 시료의 상층액인 디에틸에테르층만을 분리하여 새 분획여두에 옮긴다.
- ⑤ 하층액은 색이 더 이상 용출되지 않을 때까지 디에틸에테르 20mL를 첨가하여 위의 과정을 반복하여 층을 분리한다. 약 3~5회 반복 수행한다.
- ⑥ 새 분획여두에 옮겨진 디에틸에테르 층에 잔존하는 물층을 제거하기 위하여 2% Na_2SO_4 를 약 10mL 첨가하여 10분간 정치하였다.
- ⑦ 층분리가 완료되면 하층액만 제거한 후, 다시 10% 염화나트륨 10mL를 첨가하여 정치한다.
- ⑧ 층 분리가 완료되면 상층액인 디에틸에테르층만을 분리하여 빈 시료병에 옮겨 TurboVap으로 디에틸에테르층을 모두 제거한다.

3) (U)HPLC용 아세톤 3~5mL로 정용한 후 0.45 μm 또는 0.22 μm PVDF syringe filter로 여과한다.

4) 정량·정성실험 전까지 뚜껑달린 HPLC용 vial에 옮겨서 -20°C의 냉암소에서 보관한다.

4. 주의사항

- 파프리카 아세톤 추출물의 비검화와 검화를 UPLC를 이용하여 분석 시 비검화 시료에서는 지방산 해리가 나타나지 않아 여러 모양의 피크들이 뒷부분에 나타나는 것을 확인할 수 있으며, 30%수산화나트륨/메탄올로 검화 시료에서는 지방산 해리가 나타나 파프리카 주요 색소 성분이 검출되는 시간대의 피크가 증가하는 것을 확인할 수 있다.
- 검화시 사용되는 수산화칼륨/메탄올 용액의 농도와 반응시간, 반응온도는 달라질 수 있으나 수산화칼륨/메탄올 용액의 농도가 높을 경우 카로티노이드 파괴의 원인이 될 수 있으므로 주의해야 한다.

3. 캡산틴(적색파프리카) 신속 분석법

3-1. HPLC를 이용한 캡산틴 분석법

1. 시험방법의 요약

본 시험법은 C18 역상 컬럼을 장착하여 고속액체크로마토그래피로 적색파프리카의 주요 색소 성분인 캡산틴을 분리하는 방법으로 자외부흡광도검출기를 이용하여 캡산틴의 최대흡수 파장인 450nm에서 검출하여 정량한다.

2. 장비와 재료

2.1. 실험실 장비 및 소모품

- 용매용 일회용 실린지
- 여과용 멤브레인 필터 및 디스크형 멤브레인 필터 (0.45 μ m)
- HPLC용 유리병
- 부피플라스크 (100mL)
- 초음파진탕기 (Sonicator)

2.2. 분석장비

- 고속액체크로마토그래피(HPLC, Jasco)
- 자외부흡광도검출기 (UV Detector) 또는 다이오드어레이 검출기 (Diode Array Detector)
- 컬럼 오븐
- X-Terra™ C18 역상컬럼 (4.5mm i.d. \times 250mm, 5 μ m) 또는 이와 동등한 것

2.3. 분석장비의 준비

- 85% 메탄올 용액을 분당 1.5mL씩 충분한 시간 동안 흘려서 기기와 컬럼을 안정화 시킨다.

3. 표준물질 및 일반시약

3.1. 표준물질

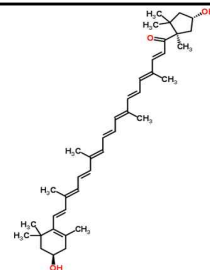
표 2. 캡산틴의 특징 및 구조

Capsanthin

((3R,3'S,5'R)-3,3'-Dihydroxy- β ,kappa-caroten-6'-one)

$\geq 95.0\%$ (HPLC), ChromaDex Co.

- 분자식 : C₄₀H₅₆O₃
- 분자량 : 584.87
- CAS No. : 465-42-9



3.2. 일반시약

- 메탄올 (Methanol, (U)HPLC grade)
- 증류수 (Distilled water)
- DMSO

4. 시험과정

4.1. 표준용액 제조

- ① 캡산틴 표준물질을 100 μ g/mL의 농도가 되게 DMSO로 표준원액을 조제한다.
- ② 표준원액을 사용하여 6.25, 12.5, 25, 50, 100 μ g/mL의 농도가 되게 DMSO로 희석하여 제조한다.

4.2. 시험용액의 제조

- ① 추출한 파프리카(적색)를 HPLC 분석용 vial에 넣어 기기에 표준품 뒤에 분석하도록 둔다.
- ② 이때 시료의 농도는 표준용액 범위에 들어가도록 한다.

5. 분석 및 계산

5.1. 기기분석

- 다음의 조건으로 사용하되 적용되는 기기에 따라 수정이 필요할 수 있다.

표 3. 고속크로마토그래피 조건

항 목	조 건
주 입 량	20 μ L
컬럼온도	35 $^{\circ}$ C
이 동 상	85% 메탄올
검출기과장	450 nm
유 속	1.5 mL/분

5.2. 결과 분석

- 크로마토그램

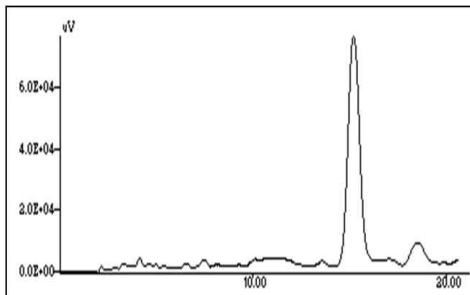


그림 1. 캡산틴의 HPLC 크로마토그램

- 계산

① 함량(%)=A×(B/C)×D×(1/1000)

A : 시험용액 중의 캡산틴 농도 (µg/mL)

B : 시험용액의 전량 (mL)

C : 시료 채취량 (mg)

D : 표준품 순도 (%)

② 캡산틴 표준품의 검량선을 이용하여 계산된 2차 방정식을 이용하여 파프리카 추출물에 함유된 캡산틴 함량을 정량할 수 있다.

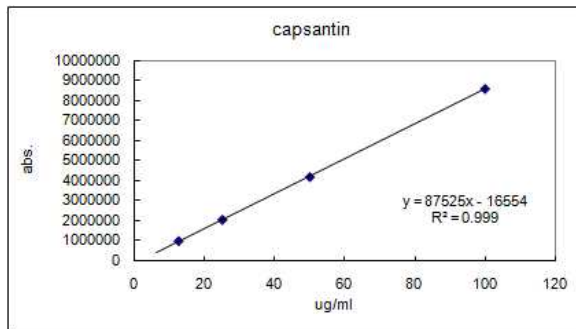


그림 2. 캡산틴 표준품의 검량선

3-2. UPLC를 이용한 캡산틴 분석법

1. 시험방법의 요약

본 시험법은 C18 역상 컬럼을 장착하여 초고속액체크로마토그래피로 적색과프리카의 주요 색소 성분인 캡산틴을 신속분리하는 방법으로 자외부흡광도검출기를 이용하여 캡산틴의 최대흡수과장인 450nm에서 검출하여 정량한다.

2. 장비와 재료

2.1. 실험실 장비 및 소모품

- 용매용 일회용 실린지
- UPLC용 유리병
- 부피플라스크 (100mL)
- 초음파진탕기 (Sonicator)

2.2. 분석장비

- 초고속액체크로마토그래피(ACQUITY UPLC H-Class, Waters)
- 자외부흡광도검출기 (UV Detector) 또는 다이오드어레이 검출기 (Diode Array Detector)
- 컬럼 오븐
- Acquity UPLC BEH C18 (2.1×50mm, 1.8um) 또는 이와 동등한 것

2.3. 분석장비의 준비

- 메탄올과 증류수를 85:15의 비율로 분당 0.5mL씩 충분한 시간 동안 흘려서 기기와 컬럼을 안정화 시킨다.

3. 표준물질 및 일반시약

3.1. 표준물질

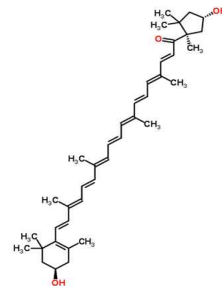
표 4. 캡산틴의 특징 및 구조

Capsanthin

((3R,3'S,5'R)-3,3'-Dihydroxy-β,kappa-caroten-6'-one)

≥95.0% (HPLC), ChromaDex Co.

- 분자식 : C₄₀H₅₆O₃
- 분자량 : 584.87
- CAS No. : 465-42-9



3.2. 일반시약

- 메탄올 (Methanol, (U)HPLC grade)

- 증류수 (Distilled water, 18mΩ)
- 아세톤 (Acetone, (U)HPLC grade)
- DMSO

4. 시험과정

4.1. 표준용액 제조

- ① 캡산틴 표준물질을 100µg/mL의 농도가 되게 아세톤 또는 DMSO로 표준원액을 조제한다.
- ② 표준원액을 사용하여 6.25, 12.5, 25, 50, 100µg/mL의 농도가 되게 아세톤 또는 DMSO로 희석하여 제조한다.

4.2. 시험용액의 제조

- ① 추출한 파프리카(적색)를 UPLC 분석용 vial에 넣어 기기에 표준품 뒤에 분석하도록 둔다.
- ② 이때 시료의 농도는 표준용액 범위에 들어가도록 한다.

5. 분석 및 계산

5.1. 기기분석

- 다음의 조건으로 사용하되 적용되는 기기에 따라 수정이 필요할 수 있다.

표 5. 고속크로마토그래피 조건

항 목	조 건
주 입 량	1.0 µL
컬럼온도	35 °C
이 동 상	메탄올 : 물 = 85 : 15 (v/v)
검출기파장	450 nm
유 속	0.5 mL/분

5.2. 결과 분석

- 크로마토그램

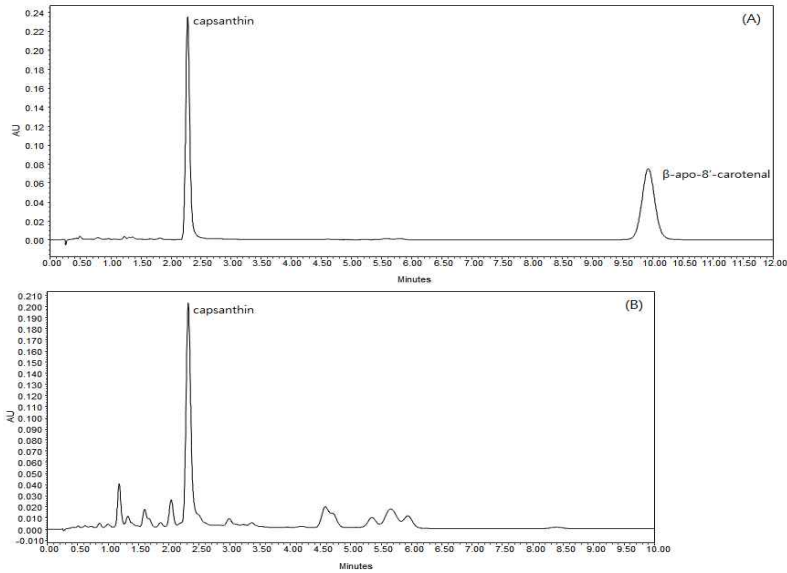


그림 3. 파프리카의 캡산틴 크로마토그램 표준품(A), 적색파프리카(B)

- 계산

① $\text{함량}(\%) = A \times (B/C) \times D \times (1/1000)$

A : 시험용액 중의 캡산틴 농도 ($\mu\text{g/mL}$)

B : 시험용액의 전량 (mL)

C : 시료 채취량 (mg)

D : 표준품 순도 (%)

② 캡산틴 표준품의 검량선을 이용하여 계산된 2차 방정식을 이용하여 파프리카 추출물에 함유된 캡산틴 함량을 정량할 수 있다.

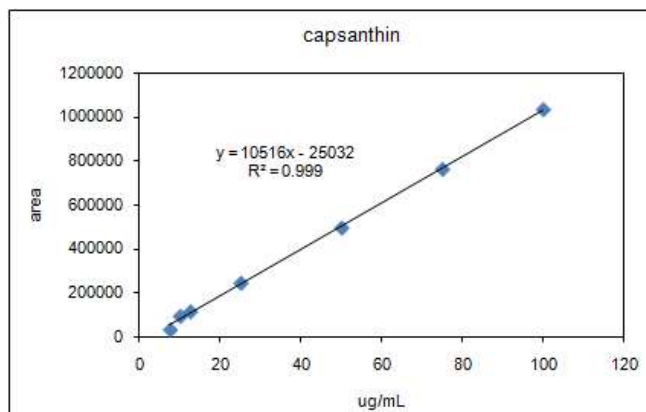


그림 4. 캡산틴 표준품의 검량선

4. 파프리카잎 유래 루테인 신속 분석법

4-1. UPLC를 이용한 루테인 분석법

1. 시험방법의 요약

본 시험법은 C18 역상 컬럼을 장착하여 초고속액체크로마토그래피로 파프리카 잎의 주요 색소 성분인 루테인을 신속분리하는 방법으로 자외부흡광도검출기를 이용하여 루테인의 최대흡수파장인 470nm에서 검출하여 정량한다.

2. 장비와 재료

2.1. 실험실 장비 및 소모품

- 용매용 일회용 실린지
- UPLC용 유리병
- 부피플라스크 (100mL)
- 초음파진탕기 (Sonicator)

2.2. 분석장비

- 초고속액체크로마토그래피 (ACQUITY UPLC H-Class, Waters)
- 자외부흡광도검출기 (UV Detector) 또는 다이오드어레이 검출기 (Diode Array Detector)
- 컬럼 오븐
- Acquity UPLC BEH C18 (2.1×50mm, 1.8 μ m) 또는 이와 동등한 것

2.3. 분석장비의 준비

- 메탄올과 증류수를 80:20의 비율로 분당 0.5mL씩 충분한 시간 동안 흘려서 기기와 컬럼을 안정화 시킨다.

3. 표준물질 및 일반시약

3.1. 표준물질

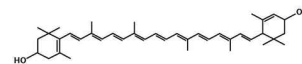
표 6. 루테인의 특징 및 구조

Lutein

(α -Carotene-3,3'-diol, β , ϵ -carotene-3,3'-diol)

$\geq 95.0\%$ (HPLC), ChromaDex Co.

- 분자식 : $C_{40}H_{56}O_2$
- 분자량 : 568.87
- CAS No. : 127-40-2



3.2. 일반시약

- 메탄올 (Methanol, (U)HPLC grade)
- 증류수 (Distilled water, 18mΩ)
- 아세톤 (Acetone, (U)HPLC grade)
- DMSO

4. 시험과정

4.1. 표준용액 제조

- ① 루테인 표준물질을 100µg/mL의 농도가 되게 아세톤 또는 DMSO로 표준원액을 조제한다.
- ② 표준원액을 사용하여 7.5, 10, 25, 50, 100µg/mL의 농도가 되게 아세톤 또는 DMSO로 희석하여 제조한다.

4.2. 시험용액의 제조

- ① 추출한 파프리카(적색)를 UPLC 분석용 vial에 넣어 기기에 표준품 뒤에 분석하도록 둔다.
- ② 이때 시료의 농도는 표준용액 범위에 들어가도록 한다.

5. 분석 및 계산

5.1. 기기분석

- 다음의 조건으로 사용하되 적용되는 기기에 따라 수정이 필요할 수 있다.

표 7. 고속크로마토그래피 조건

항 목	조 건
주 입 량	1.0 µL
컬럼온도	35 °C
이 동 상	메탄올 : 물 = 85 : 15 (v/v)
검출기파장	450 nm
유 속	0.5 mL/분

5.2. 결과 분석

- 크로마토그램

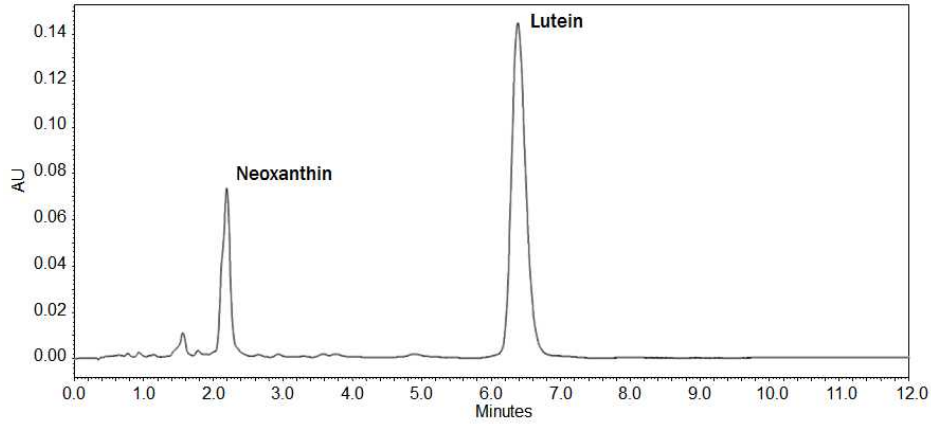


그림 5. 파프리카 잎의 루테인 크로마토그램

- 계산

① 함량(%) = $A \times (B/C) \times D \times (1/1000)$

A : 시험용액 중의 루테인 농도 ($\mu\text{g/mL}$)

B : 시험용액의 전량 (mL)

C : 시료 채취량 (mg)

D : 표준품 순도 (%)

② 루테인 표준품의 검량선을 이용하여 계산된 2차 방정식을 이용하여 파프리카 잎 추출물에 함유된 루테인 함량을 정량할 수 있다.

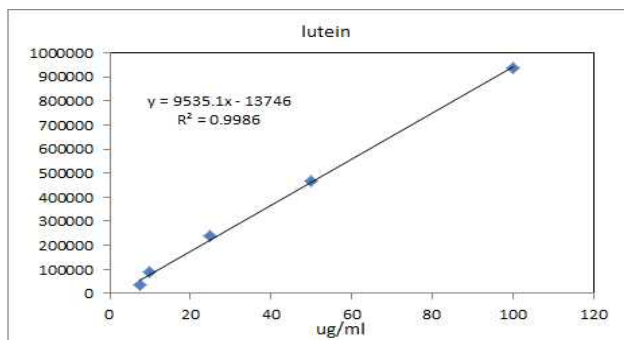


그림 6. 루테인 표준품의 검량선

5. 파프리카 유래 카로티노이드 동시 분석

5-1. HPLC를 이용한 카로티노이드 9종 분석법

1. 시험방법의 요약

본 시험법은 C18 역상 컬럼을 장착하여 고속액체크로마토그래피로 9종의 카로티노이드를 분리하는 방법으로 자외부흡광도검출기를 이용하여 카로티노이드의 최대흡수파장인 450nm에서 검출하여 정량한다.

2. 장비와 재료

2.1. 실험실 장비 및 소모품

- 용매용 일회용 실린지
- 여과용 멤브레인 필터 및 디스크형 멤브레인 필터 (0.45µm)
- HPLC용 유리병
- 부피플라스크 (100mL)
- 초음파진탕기 (Sonicator)

2.2. 분석장비

- 고속액체크로마토그래피(HPLC, Jasco)
- 자외부흡광도검출기 (UV Detector) 또는 다이오드어레이 검출기 (Diode Array Detector)
- 컬럼 오븐
- X-Terra™ C18 역상컬럼 (4.5mm i.d. × 250mm, 5µm) 또는 이와 동등한 것

2.3. 분석장비의 준비

- 85% 메탄올용액을 분당 1.5mL씩 충분한 시간 동안 흘려서 기기와 컬럼을 안정화 시킨다.

3. 표준물질 및 일반시약

3.1. 표준물질

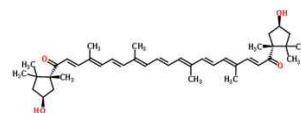
표 8. 카로티노이드의 특징 및 구조

Capsorubin

((3S,5R,3'S,5'R)-3,3'-Dihydroxy-k,k-carotene-6,6'-dione

≥95.0% (HPLC), ChromaDex Co.

- 분자식 : C₄₀H₅₆O₄
- 분자량 : 600.87
- CAS No. : 470-38-2

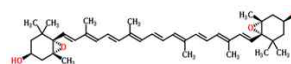


Violaxanthin

((3S,3'S,5R,5'R,6S,6'S)-5,5',6,6'-Tetrahydro-5,6,5',6'-diepoxy-β,β-carotene-3,3'-diol)

≥95.0% (HPLC), ChromaDex Co.

- 분자식 : C₄₀H₅₆O₄
- 분자량 : 600.87
- CAS No. : 126-29-4

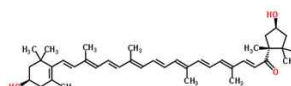


Capsanthin

((3R,3'S,5'R)-3,3'-Dihydroxy-β,kappa-caroten-6'-one)

≥95.0% (HPLC), ChromaDex Co.

- 분자식 : C₄₀H₅₆O₃
- 분자량 : 584.87
- CAS No. : 465-42-9

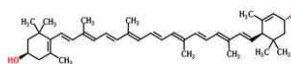


Lutein

((3R,3'R,6R)-4,5-Didehydro-5,6-dihydro-β,β-carotene-3,3'-diol)

≥95.0% (HPLC), ChromaDex Co.

- 분자식 : C₄₀H₅₆O₂
- 분자량 : 568.87
- CAS No. : 127-40-2

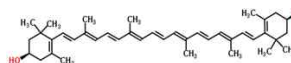


Zeaxanthin

((3R,3'R),β,β-Carotene-3,3'-diol)

≥95.0% (HPLC), ChromaDex Co.

- 분자식 : C₄₀H₅₆O₂
- 분자량 : 568.87
- CAS No. : 144-68-3

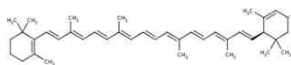


α-Cryptoxanthin

((3R,6R)-4,5-Didehydro-5,6-dihydro-β,β-carotene-3ol)

≥95.0% (HPLC), ChromaDex Co.

- 분자식 : C₄₀H₅₆O
- 분자량 : 552.87
- CAS No. : 24480-38-4

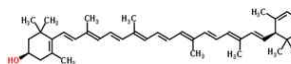


β-Cryptoxanthin

((3R,6'R)-4',5'-Didehydro-5',6'-dihydro-β,β-carotene-3ol)

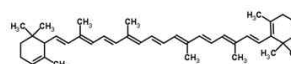
≥95.0% (HPLC), ChromaDex Co.

- 분자식 : C₄₀H₅₆O
- 분자량 : 552.87
- CAS No. : 24480-38-4



α-Carotene

(4,5-Didehydro-5,6-dihydro-β,β-carotene)



≥95.0% (HPLC), ChromaDex Co.

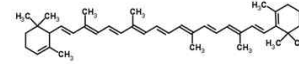
- 분자식 : $C_{40}H_{56}$
- 분자량 : 536.87
- CAS No. : 7488-99-5

β-Carotene

(β,β-carotene)

≥95.0% (HPLC), ChromaDex Co.

- 분자식 : $C_{40}H_{56}$
 - 분자량 : 536.87
 - CAS No. : 7235-40-7
-



3.2. 일반시약

- 메탄올 (Methanol, (U)HPLC grade)
- 증류수 (Distilled water)
- 아세톤 (Acetone, (U)HPLC grade)
- DMSO

4. 시험과정

4.1. 표준용액 제조

- ① 캡소루빈, 비올라잔틴, 캡산틴, 루테인, 제아잔틴, 알파크립토잔틴, 베타크립토잔틴, 알파카로틴, 베타카로틴 표준물질을 각각 900μg/mL의 농도가 되게 아세톤 또는 DMSO로 표준원액을 조제하여 동량씩 혼합하여 카로티노이드 9종 혼합 표준용액 100μg/mL을 만든다.
- ② 표준원액을 사용하여 6.25, 12.5, 25, 50, 100μg/mL의 농도가 되게 아세톤 또는 DMSO로 희석하여 제조한다.

4.2. 시험용액의 제조

- ① 추출한 파프리카를 HPLC 분석용 vial에 넣어 기기에 표준품 뒤에 분석하도록 둔다.
- ② 이때 시료의 농도는 표준용액 범위에 들어가도록 한다.

5. 분석 및 계산

5.1. 기기분석

- 다음의 조건으로 사용하되 적용되는 기기에 따라 수정이 필요할 수 있다.

표 9. 고속크로마토그래피 조건

항 목	조 건		
주 입 량	20 μ L		
컬럼온도	35 $^{\circ}$ C		
이 동 상	A: 85% 메탄올(v/v), B: 50% 아세톤/메탄올(v/v)		
구배분석용매조건	Time(min)	A(%)	B(%)
	0	100	0
	20	55	45
	26	100	0
	33	0	100
	42	100	0
45	100	0	
검출기과장	450 nm		
유 속	1.5 mL/분		

5.2. 결과 분석

- 크로마토그램

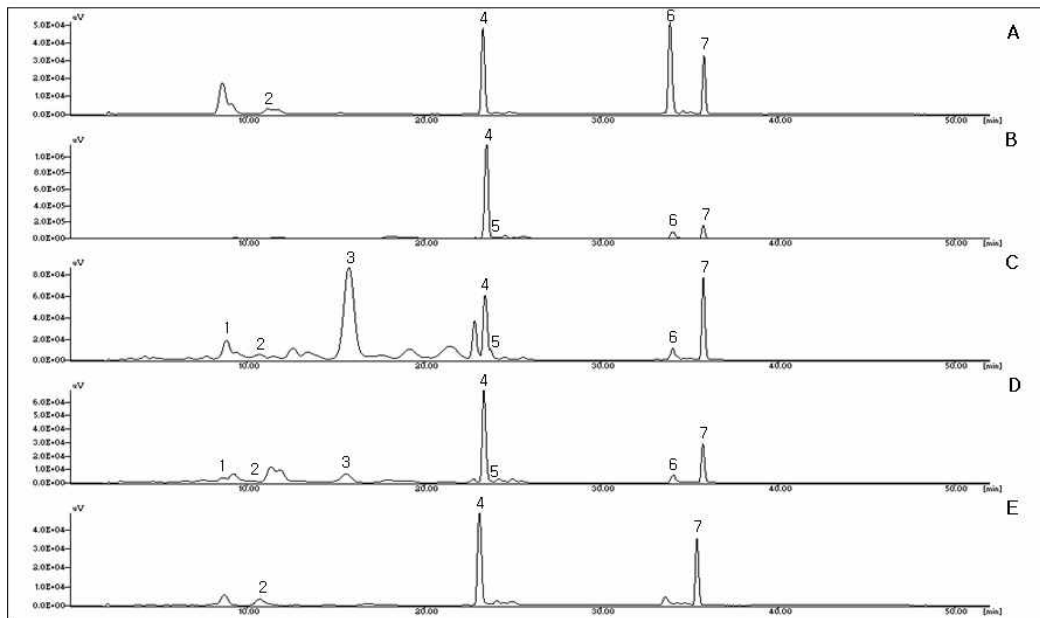


그림 7. 색상별 파프리카의 HPLC 크로마토그램 A:녹색과, B:주황색과, C:적색과, D:노란색과, E:잎; 1: capsorubin, 2: violaxanthin, 3: capsanthin, 4: lutein, 5: zeaxanthin, 6: α, β -cryptoxanthin, 7: α, β -carotene

- 계산

① 함량(%) = $A \times (B/C) \times D \times (1/1000)$

A : 시험용액 중의 카로티노이드 각 표준품 농도 (μ g/mL)

B : 시험용액의 전량 (mL)

C : 시료 채취량 (mg)

D : 표준품 순도 (%)

② 카로티노이드 9종 표준품의 검량선을 이용하여 계산된 2차 방정식을 이용하여 파프리카 추출물에 함유된 각각의 카로티노이드의 함량을 정량할 수 있다.

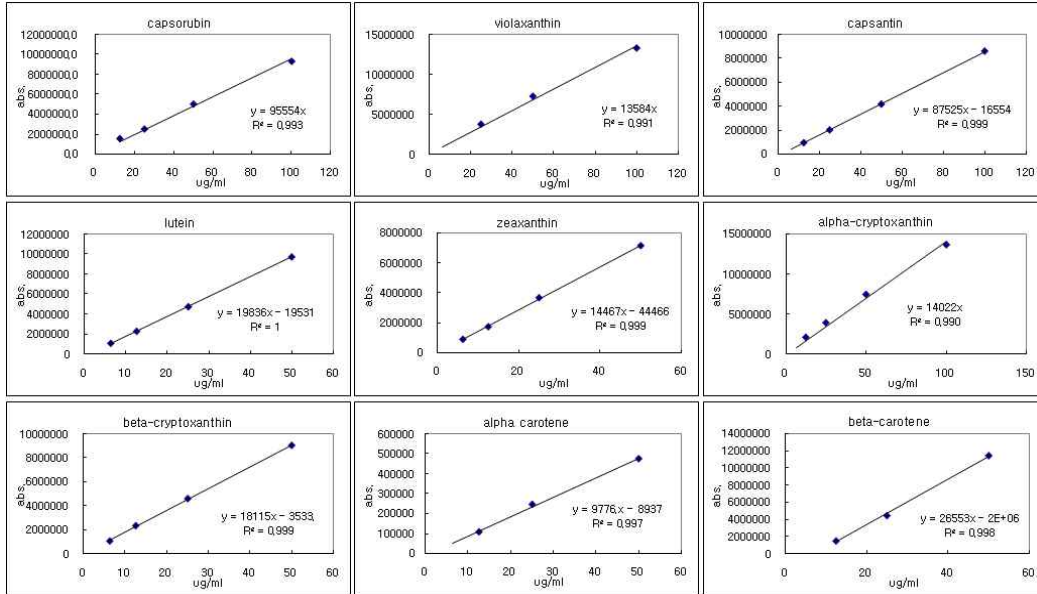


그림 8. 카로티노이드 9종 표준품의 검량선

5-2. UPLC를 이용한 카로티노이드 12종 분석법

1. 시험방법의 요약

본 시험법은 C18 역상 컬럼을 장착하여 초고속액체크로마토그래피로 12종의 카로티노이드를 분리하는 방법으로 자외부흡광도검출기를 이용하여 카로티노이드의 최대흡수파장인 450nm에서 검출하여 정량한다.

2. 장비와 재료

2.1. 실험실 장비 및 소모품

- 용매용 일회용 실린지
- UPLC용 유리병
- 부피플라스크 (100mL)
- 초음파진탕기 (Sonicator)

2.2. 분석장비

- 초고속액체크로마토그래피(ACQUITY UPLC H-Class, Waters)
- 자외부흡광도검출기 (UV Detector) 또는 다이오드어레이 검출기 (Diode Array Detector)
- 컬럼 오븐
- Acquity UPLC HSS T3 (2.1×50mm, 1.8um)또는 이와 동등한 것

2.3. 분석장비의 준비

- 아세토니트릴/메탄올/메틸렌클로라이드 (65/25/10, v/v/v) 혼합용매와 물을 70:30의 비율로 분당 0.5mL씩 충분한 시간 동안 흘려서 기기와 컬럼을 안정화 시킨다.

3. 표준물질 및 일반시약

3.1. 표준물질

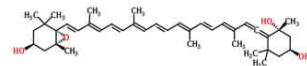
표 10. 카로티노이드의 특징 및 구조

Neoxanthin

((3S,3'S,5R,5'R,6'S)-6,7-Didehydro-5,5',6,6'-tetrahydro-5',6'-epoxy-β,β-carotene-3,3',5-triol)

≥95.0% (HPLC), ChromaDex Co.

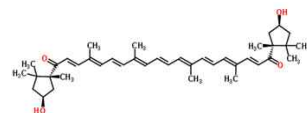
- 분자식 : C₄₀H₅₆O₄
- 분자량 : 600.87
- CAS No. : 14660-91-4



Capsorubin

((3S,5R,3'S,5'R)-3,3'-Dihydroxy-k,k-carotene-6,6'-dione)

≥95.0% (HPLC), ChromaDex Co.



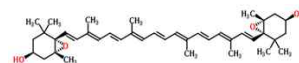
- 분 자 식 : $C_{40}H_{56}O_4$
- 분 자 량 : 600.87
- CAS No. : 470-38-2

Violaxanthin

((3S,3'S,5R,5'R,6S,6'S)-5,5',6,6'-Tetrahydro-5,6,5',6',-di epoxy- β,β -carotene-3,3'-diol)

≥95.0% (HPLC), ChromaDex Co.

- 분 자 식 : $C_{40}H_{56}O_4$
- 분 자 량 : 600.87
- CAS No. : 126-29-4

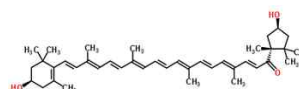


Capsanthin

((3R,3'S,5'R)-3,3'-Dihydroxy- β,κ -caroten-6'-one)

≥95.0% (HPLC), ChromaDex Co.

- 분 자 식 : $C_{40}H_{56}O_3$
- 분 자 량 : 584.87
- CAS No. : 465-42-9

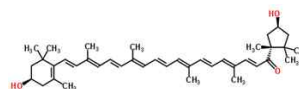


Antheraxanthin

((3R,3'S,5'R,6'S)-5',6'-Dihydro-5',6'-epoxy- β,β -carotene-3,3'-diol)

≥95.0% (HPLC), ChromaDex Co.

- 분 자 식 : $C_{40}H_{56}O_3$
- 분 자 량 : 584.87
- CAS No. : 465-42-9

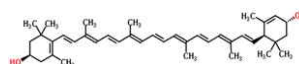


Lutein

((3R,3'R,6R)-4,5-Didehydro-5,6-dihydro- β,β -carotene-3,3'-diol)

≥95.0% (HPLC), ChromaDex Co.

- 분 자 식 : $C_{40}H_{56}O_2$
- 분 자 량 : 564.87
- CAS No. : 640-03-9

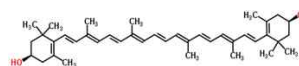


Zeaxanthin

((3R,3'R), β,β -Carotene-3,3'-diol)

≥95.0% (HPLC), ChromaDex Co.

- 분 자 식 : $C_{40}H_{56}O_2$
- 분 자 량 : 568.87
- CAS No. : 144-68-3

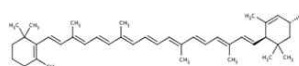


α -Cryptoxanthin

((3R,6R)-4,5-Didehydro-5,6-dihydro- β,β -carotene-3ol)

≥95.0% (HPLC), ChromaDex Co.

- 분 자 식 : $C_{40}H_{56}O$



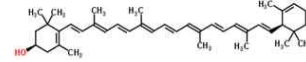
- 분 자 량 : 552.87
- CAS No. : 24480-38-4

β-Cryptoxanthin

((3R,6'R)-4',5'-Didehydro-5',6'-dihydro-β,β-carotene-3-ol)

≥95.0% (HPLC), ChromaDex Co.

- 분 자 식 : C₄₀H₅₆O
- 분 자 량 : 552.87
- CAS No. : 24480-38-4

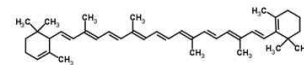


α-Carotene

(4,5-Didehydro-5,6-dihydro-β,β-carotene)

≥95.0% (HPLC), ChromaDex Co.

- 분 자 식 : C₄₀H₅₆
- 분 자 량 : 536.87
- CAS No. : 7488-99-5

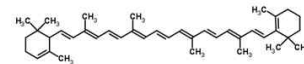


β-Carotene

(β,β-carotene)

≥95.0% (HPLC), ChromaDex Co.

- 분 자 식 : C₄₀H₅₆
- 분 자 량 : 536.87
- CAS No. : 7235-40-7



3.2. 일반시약

- 아세토니트릴(Acetonitrile, (U)HPLC grade)
- 메탄올 (Methanol, (U)HPLC grade)
- 메틸렌클로라이드(Methylene chloride, (U)HPLC grade)
- 증류수 (Distilled water)
- 아세톤(Acetone, (U)HPLC grade)
- DMSO

4. 시험과정

4.1. 표준용액 제조

- ① 네오잔틴, 캡소루빈, 비올라잔틴, 캡산틴, 엔테라잔틴, 루테인, 제아잔틴, 알파크립토잔틴, 베타크립토잔틴, 라이코펜, 알파카로틴, 베타카로틴 표준물질을 각각 1200μg/mL의 농도가 되게 아세톤 또는 DMSO로 표준원액을 조제하여 동량씩 혼합하여 카로티노이드 12종 혼합 표준용액 100μg/mL을 만든다.
- ② 표준원액을 사용하여 6.25, 12.5, 25, 50, 100μg/mL의 농도가 되게 아세톤 또는 DMSO로 희석하여 제조한다.

4.2. 시험용액의 제조

- ① 추출한 파프리카를 HPLC 분석용 vial에 넣어 기기에 표준품 뒤에 분석하도록 둔다.
- ② 이때 시료의 농도는 표준용액 범위에 들어가도록 한다.

5. 분석 및 계산

5.1. 기기분석

- 다음의 조건으로 사용하되 적용되는 기기에 따라 수정이 필요할 수 있다.

표 11. 고속크로마토그래피 조건

항 목	조 건																																	
주 입 량	1.0 μ L																																	
컬럼온도	35 $^{\circ}$ C																																	
이 동 상	A: 아세토니트릴/메탄올/메틸렌클로라이드(65/25/10, v/v/v) B: 물																																	
구배분석용매조건	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Time(min)</th> <th>A(%)</th> <th>B(%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>70</td><td>30</td></tr> <tr><td>6.5</td><td>70</td><td>30</td></tr> <tr><td>7</td><td>75</td><td>25</td></tr> <tr><td>11</td><td>75</td><td>25</td></tr> <tr><td>11.5</td><td>70</td><td>30</td></tr> <tr><td>17</td><td>70</td><td>30</td></tr> <tr><td>17.5</td><td>100</td><td>0</td></tr> <tr><td>27.5</td><td>100</td><td>0</td></tr> <tr><td>28</td><td>70</td><td>30</td></tr> <tr><td>30</td><td>70</td><td>30</td></tr> </tbody> </table>	Time(min)	A(%)	B(%)	0	70	30	6.5	70	30	7	75	25	11	75	25	11.5	70	30	17	70	30	17.5	100	0	27.5	100	0	28	70	30	30	70	30
Time(min)	A(%)	B(%)																																
0	70	30																																
6.5	70	30																																
7	75	25																																
11	75	25																																
11.5	70	30																																
17	70	30																																
17.5	100	0																																
27.5	100	0																																
28	70	30																																
30	70	30																																
검출기과장	450 nm																																	
유 속	0.5 mL/분																																	

5.2. 결과 분석

- 크로마토그램

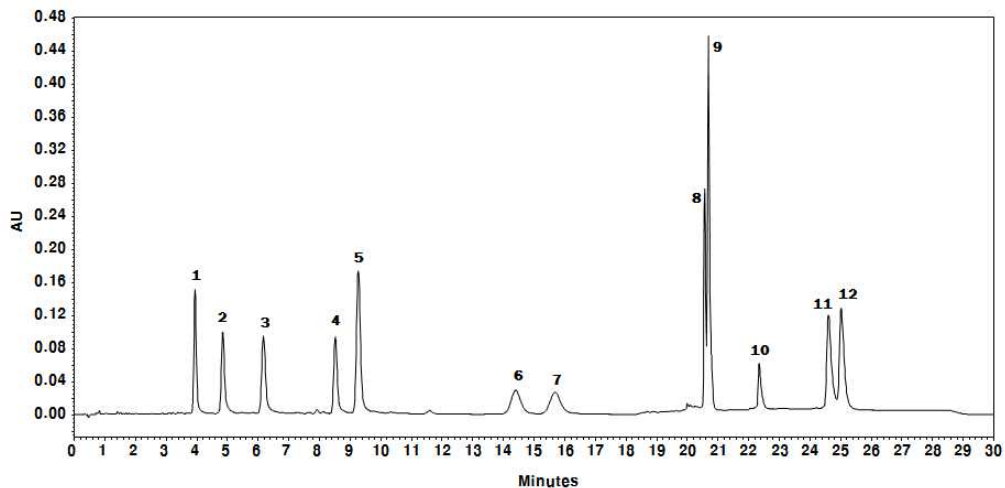


그림 9. 카로티노이드 표준품 12종 UPLC 크로마토그램 1,noexanthin; 2,capsorubin; 3,violaxanthin; 4,capsanthin; 5,antheraxanthin; 6,zeaxanthin; 7,lutein; 8, α -cryptoxanthin; 9, β -cryptoxanthin; 10,lycopene; 11, α -carotene; 12, β -carotene

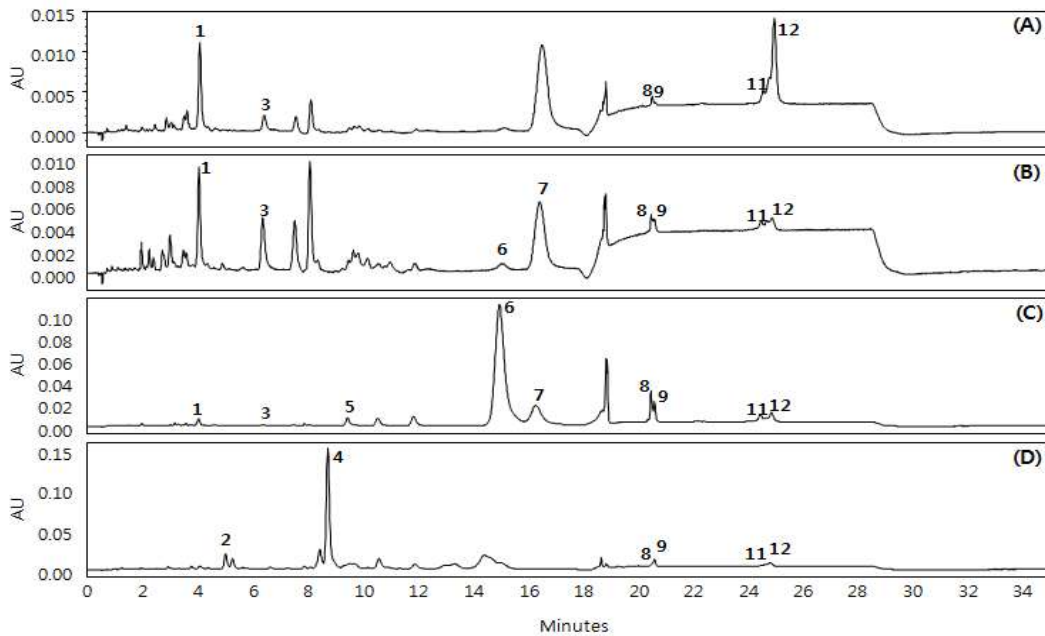


그림 10. 색상별 파프리카의 UPLC 크로마토그램 적색과(A), 주황색과(B), 노란색과(C), 녹색과(D) 1,noexanthin; 2,capsorubin; 3,violaxanthin; 4,capsanthin; 5,antheraxanthin; 6,zeaxanthin; 7,lutein; 8, α -cryptoxanthin; 9, β -cryptoxanthin; 10,lycopene; 11, α -carotene; 12, β -carotene

- 계산

① 함량(%)=A×(B/C)×D×(1/1000)

A : 시험용액 중의 카로티노이드 각 표준품 농도 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)

B : 시험용액의 전량 (mL)

C : 시료 채취량 (mg)

D : 표준품 순도 (%)

② 카로티노이드 12종 표준품의 검량선을 이용하여 계산된 2차 방정식을 이용하여 파프리카 추출물에 함유된 각각의 카로티노이드의 함량을 정량할 수 있다.

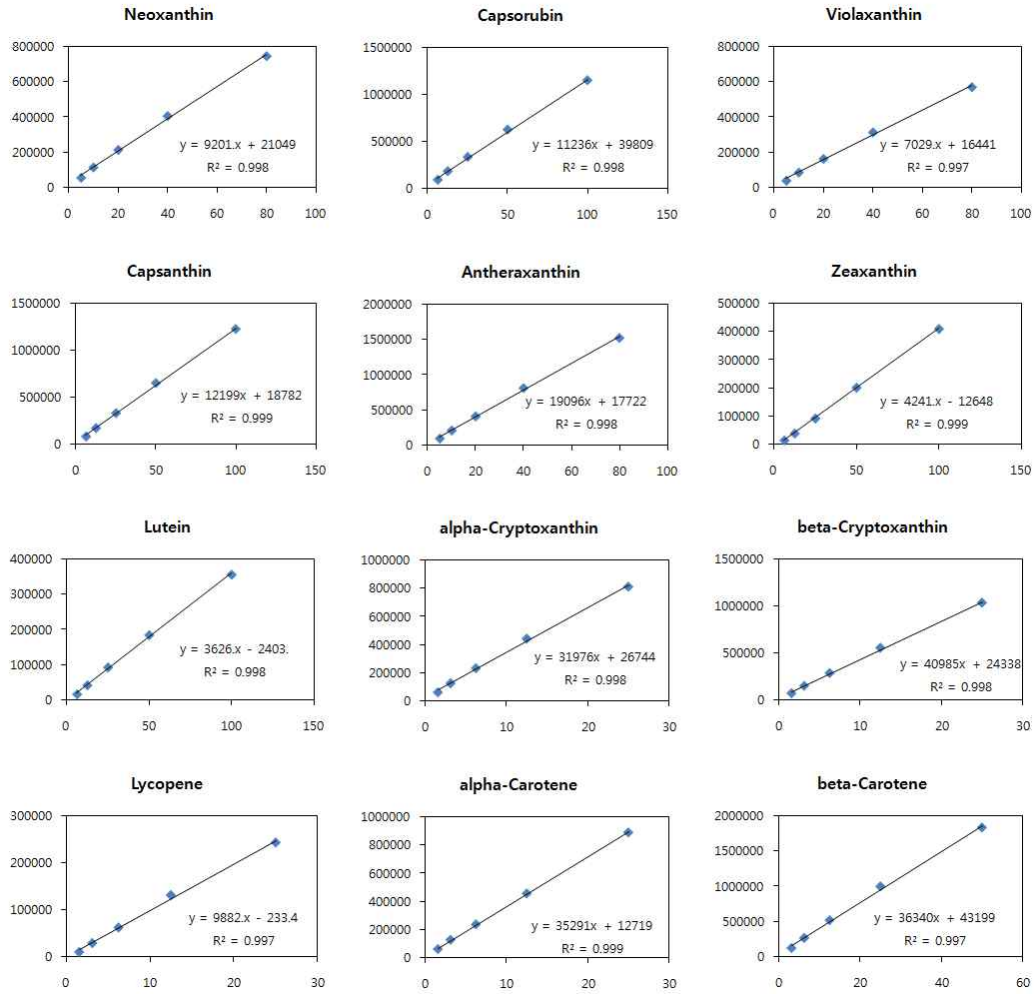


그림 11. 카로티노이드 12종 표준품의 검량선

<붙임 3>

파프리카의 관능검사법

목 차

1. 파프리카의 관능평가	174
2. 관능평가 관련 용어	176
3. 파프리카 관능 속성	179
4. 관능평가 영향요인 및 시설	180
5. 패널 선정 및 훈련	182
6. 평가도구	185
7. 시료 준비 및 제시	188
8. 통계처리 및 결과정리	190

1. 파프리카의 관능평가

관능평가는 미각, 후각, 시각, 촉각, 청각 등 인간의 감각을 이용하여 식품의 외관, 향미, 조직감 등 관능적 품질특성을 과학적으로 평가하는 것이다. 인간의 감각 기관은 매우 민감하고 복합적으로 작용하는 과학적이고 효과적인 측정도구이다. 따라서, 인간이 직접 감지하는 반응을 측정하고 분석하는 것은 소비자의 기호도를 가장 잘 반영할 수 있다.

과일이나 채소류의 품질은 신선도와 영양적 가치, 상품적 가치 등을 평가한다. 일반적으로 소비자가 채소류 상품을 선택할 때에는 1차적으로 표면상태, 크기, 모양, 색상, 질감, 향미와 같은 외부적인 특성으로 살펴보고, 2차적으로는 섭취하면서 느끼는 맛과 향, 입안에서의 저작동안 감지할 수 있는 경도, 씹힘성, 과즙성, 점착성 등의 특성을 평가한다. 고품질의 과채류를 생산하기 위해서는 기기적 특성의 적합성뿐만 아니라 소비자의 관능적 속성에 대한 요구를 충족시킬 수 있는 상품으로 재배, 생산하는 것이 매우 중요하다. 따라서 과채류의 품질평가를 위해 관능평가는 유용하게 활용될 수 있는 방법이다.

관능평가로 종합적 평가를 위해 다양한 속성을 지표로 한다. 외관(appearance)은 시각에서 감지하고 평가하는 속성이다. 과채류의 냄새나 영양적 가치가 뛰어나더라도 시각적으로 소비자의 시선을 끌지 못한다면 시장에서의 가치가 떨어지게 된다. 크기(size)가 너무 크거나 작으면 할인된 가격으로 판매되는 경향이 있어 상품가치가 떨어진다. 색상(color) 역시 중요한 요인이다. 일반적으로 과채류의 색상이 붉은색일 때 동일한 과채류의 노란색보다 시선을 끄는 효과가 있다. 표면색상의 강도(intensity) 역시 시선을 끄는 중요한 속성으로 동일한 품종의 경우 짙은 붉은색이 연한 붉은색보다 높은 선호도를 보이는 경향이 있다. 이와 같이 표면색상의 중요성과 함께 과채류 종류에 따라 색상차트가 개발되어 소비자가 선호하는 색상의 과채류의 재배 및 생산에 활용하고 있다. 조직감(texture)은 손으로 만지거나 입안에서 저작동안 감지하는 느낌과 관련된 속성으로 경도, 부드러움, 바삭함, 과즙성, 거침 등의 속성으로 표현되며, 과채류의 풍미(flavor)도 입안에서 저작하는 동안 감지되기 때문에 조직감과 관련되는 특성이라 할 수 있다. 인간은 과채류 자체의 전형적인 냄새와 함께 입안에서 저작동안 생성되는 휘발성 물질을 복합적으로 감지하며 이를 풍미라 한다.

파프리카는 과경이 9~10cm인 블로키타입이 주로 재배 및 소비되고 있고 최근에는 품종개량을 통해 먹기 좋은 크기인 미니파프리카의 재배와 소비도 증가하고 있다. 파프리카의 색상은 붉은색 소비가 가장 많고 노란색, 주황색, 녹색 파프리카가 유통되고 있으며 최근에는 보라색, 갈색, 아이보리색 파프리카가 등장하여 소비자의 다양한 요구에 부합하는 과채류로 자리매김하고 있다. 본 자료에서는 우수한 파프리카 품종개발 및 상품성 증진을 위해 활용할 수 있는 파프리카 관능평가용 가이드라인을 제시하고자 한다.

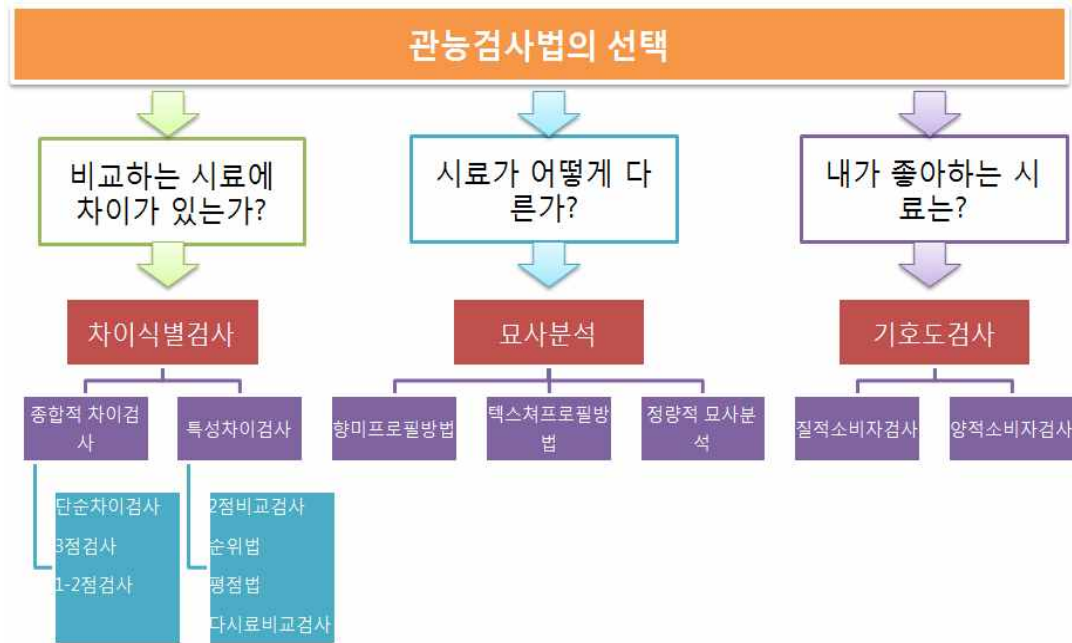


그림 1. 관능평가법의 종류 및 선택기준

[출처] 조영, 김선아 (2014). 조리원리. 한국방송통신대학교 출판문화원. p 48

2. 관능평가 관련 용어(terminology)

- 패널: 관능검사를 할 수 있는 자격을 지는 사람들의 집단
- 텍스처(texture): 기계적 촉각, 경우에 따라서 시각, 청각의 감각기관에 의해 감지할 수 있는 식품의 모든 물성학적, 구조적 특성
- 척도: 반응에 대한 강도를 표시하는 것으로 숫자, 그림, 언어 등으로 표시함.
 - 명목척도: 어떤 특정한 순서나 양에 관계없이 단지 이름에 의해 분류함.
 - 서수척도: 시료들의 순위를 평가하는 방법
 - 간격척도: 어떤 특성의 강도를 일정하게 먼저 나누어 놓고 각 시료들이 이 중 어디에 속하는지를 결정(항목척도와 선척도가 해당됨)
 - 비율척도: 기준시료의 어떤 특성 강도에 비하여 측정하고자 하는 시료의 특성 강도가 얼마나 더 강한지 또는 더 약한지를 비율로 나타내는 것
- 삼점검사법(3점법): 3개의 시료를 제시하고 그 중 2개의 시료는 같고 하나는 다르다고 알려준 후 다른 시료하나를 식별해내도록 하는 방법
- 일이점검사법(1-2점법): 기준시료로 표시된 시료를 먼저 평가하고, 2개의 시료를 평가하여 2개의 시료 중에서 어느 시료가 기준시료와 동일한 것인가를 선택하는 검사
- 묘사분석: 고도로 훈련된 소수의 패널에 의해 제품의 관능특성을 질적, 양적으로 묘사하는 방법으로 향미프로필방법, 텍스처프로필방법, 정량적묘사분석등이 이용
- 오차
 - 기대오차: 평가자가 시료에 대한 어떤 정보를 알고 있을 경우 선입관을 갖게 되는 것
 - 중앙경향오차: 시료를 제공할 때 가운데 놓인 시료에 대한 선호가 높아 나타나는 오차
 - 자극오차: 평가할 항목과 상관없는 특성들(예: 용기의 형태, 색 등)이 평가에 영향을 미치는 경우
 - 시간오차(위치오차): 여러 시료를 평가할 경우 시료를 제공하는 순서나 위치에 의해 오차가 발생
- 분산분석: 세 집단의 집단 간 평균 차이 여부를 검정하는 방법
- 상관분석: 두 연속변수의 선형 상관계수를 구하는 통계 방법으로 하나의 변수가 다른 변수와 어느 정도 밀접한 관련성을 가지면서 변화하는가를 알아보는 것
- 회귀분석: 독립변수와 종속변수 간의 함수적 관계식을 통계적 방법으로 추정하는 방법으로 독립변수의 수가 하나인 단순회귀분석(simple regression analysis)과 여러 개인 다중회귀분석(multiple regression analysis)이 주로 사용
- 주성분분석: 여러 변수들의 변량을 주성분이라 불리는 보다 적은 수의 변수로 요약하는 방법이며, 주성분은 원 변수의 선형결합으로 주성분 점수들은 서로 비상관관계임.
- 요인분석: 여러 변수들 간의 고려를 고려하여 내면에 잠재되어 있는 공통요인을 찾는 방법
- 군집분석: 관측대상들을 비슷한 특징을 갖는 대상들끼리 군집형성을 통하여 분류하는 방법
- t-검정(t-test): 두 집단 간 평균을 비교하는 통계분석법으로 두 집단 간 평균 차이에 대한 통계적 유의성을 검증하는 방법

표 1. 척도의 종류 및 예시

(a) 명목척도

다음 시료의 맛을 보고 시료의 맛을 나타내는 항목에 ○ 표해 주십시오.

신맛 _____, 단맛 _____, 짠맛 _____, 쓴맛 _____, 매운맛 _____

(b) 서수척도

다음 시료들을 맛본 후 단맛의 강도를 약한 맛부터 순서대로 표시해주십시오.

시료: 298 154 736 501 883

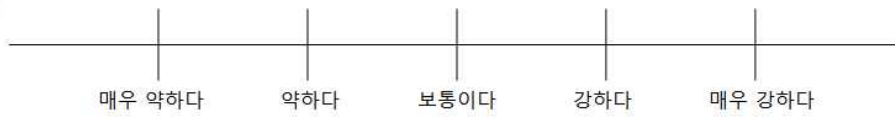
단맛순위: _____, _____, _____, _____, _____

(c) 간격척도

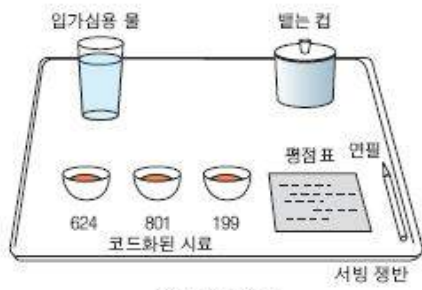
다음 시료들을 맛본 후 단맛의 강도에 해당하는 위치에 시료번호를 기입해 주십시오.

시료: 154, 736, 501

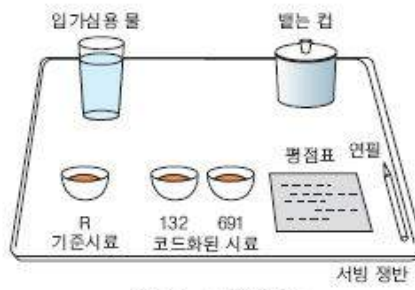
단맛



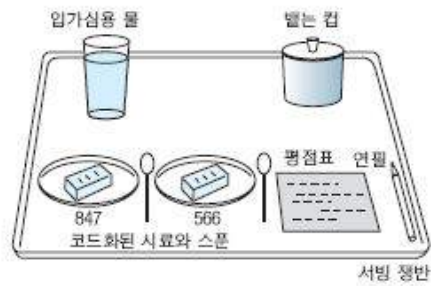
[출처] 조영, 김선아 (2013). 조리과학. 한국방송통신대학교 출판문화원. p 65



(a) 삼점검사



(b) 일·이점검사



(c) 단순차이검사

그림 2. 종합적 차이검사법의 시료제공 방법

[출처] 조영, 김선아 (2013). 조리과학. 한국방송통신대학교 출판문화원. p 66

3. 파프리카 관능 속성(terminology)

표 1. 관능평가의 속성

용어	설명
외관(appearance)	파프리카 모양
크기(size)	파프리카 크기
표면색상(surface color intensity)	파프리카 색상별 전형적인 색상의 강도
표면광택성(glossiness)	파프리카 표면에 윤기가 흐르고 반짝이는 정도
경도(hardness)	파프리카를 씹을 때 기대되는 변형에 도달하는데 드는 힘
과즙성(juiciness)	파프리카에서 나오는 즙을 입안에서 느끼는 관능 속성
단맛(sweetness)	혀에서 느끼는 당의 맛
매운맛(pungent)	혀에서 느끼는 캡사이신의 매운맛
신맛(acidness)	혀에서 느끼는 산의 맛
쓴맛(bitterness)	혀에서 느끼는 퀴닌 등 쓴 물질의 맛
풋내(grassy aroma)	잔디, 허브, 녹색채소, 풋콩, 미성숙과일 등이나 풀을 벨 때 생성되는 특유의 냄새
풋고추향(green pepper aroma)	녹색 고추나 녹색 파프리카에서 나는 특유의 냄새
오이향 (cucumber aroma):	싱싱한 오이 특유의 냄새
선호도(preference)	제시된 시료 중에서 더 좋아하는 시료를 선택 하게함.
기호도(overall acceptance)	제품을 얼마나 좋아하는지의 정도를 평가

4. 관능평가 영향 요인 및 시설

4.1. 요약

관능평가는 패널이 기계와 같은 측정의 역할을 하는데 패널들 사이에 상당한 변이와 편견을 가지고 있다. 이러한 차이를 최소화하기 위해 관능적 지각에 영향을 미치는 생리적, 심리적 판단에 영향을 이해해야 하며, 관능평가의 업무를 효율적이고 원활하게 수행하기 위해 관능검사 전용공간과 시설이 확보되어야한다.

4.2. 관능평가 영향요인

4.2.1. 생리적 요인

- 순응 : 자극에 지속적으로 노출됨으로서 주어진 자극에 대해 감수성이 저하, 변화되는 것
- 강화: 다른 물질과 혼합되어 있을 때 인지하는 강도가 높아지는 현상
- 억제: 다른 물질과 혼합되어 있을 때 인지하는 강도가 낮아지는 현상
- 상승: 두 물질을 각각 인지할 때보다 혼합하였을 때 인지하는 강도가 증가하는 것

4.2.2. 심리적 요인

- 기대오차: 평가자가 시료에 대한 어떤 정보를 알고 있을 경우 선입관을 갖게 되는 것
- 습관오차: 주어진 시료들의 특성 강도가 아주 완만하게 증가하거나 감소하는 시료를 계속 평가할 경우 시료 간의 차이가 없는 것으로 느끼는 현상
- 논리적 오차: 패널이 시료의 관능특성을 평가할 때 특성 간의 연관성을 생각해서 평가를 하는 경우 발생하는 오차
- 후광효과: 평가자가 여러 가지 특성을 평가할 경우 서로의 순위가 영향을 미치면서 발생하는 오차
- 자극오차: 평가할 항목과 상관없는 특성들(예: 용기의 형태, 색 등)이 평가에 영향을 미치는 경우
- 시료제공순서에 따른 오차
 - 대조오차: 품질이 우수한 시료를 제시한 후 나쁜 시료를 제시할 때 평가가 더욱 나쁘게 평가되는 오차
 - 중앙경향오차: 시료를 제공할 때 가운데 놓인 시료에 대한 선호가 높아 나타나는 오차
 - 시간오차(위치오차): 여러 시료를 평가할 경우 시료를 제공하는 순서나 위치에 의해 오차가 발생

4.3. 관능평가 시설

- 패널 각자가 정신을 집중할 수 있는 분위기를 마련하기 위해 독립된 부스(칸막이 검사

대)를 이용하였다.

- 각 부스(booth)에는 입을 행구기 위한 물을 제공하였고, 미닫이창을 이용하여 냄새나 시각적 정보를 차단하였다. 부스(booth)의 조명 300~500 lux, 온도 20~22℃, 상대습도 50~55%로 유지하였고, 통풍이 잘되게 하였다.

4.4. 시료의 준비

- 시료의 보관, 준비, 제공시에는 유리나 도기, 스테인레스 스틸제품을 사용하며, 저울, 시료의 부피측정과 보관을 위한 유리그릇, 준비과정을 모니터링하기 위한 타이머, 시료의 혼합과 보관을 위한 스테인레스 스틸도구를 사용하였다.
- 시료를 담는 용기는 간편한 1회용품이나 일상생활에서 일반적으로 사용하는 것을 준비하되 흰색의 동일한 용기를 사용하고, 색이 평가에 영향을 주지 않도록 하며, 이취감이 없도록 유리나 도기제품을 사용하도록 하였다.
- 시료의 양의 차이는 평가 결과에 영향을 미치므로 패널에게 정확하고 동일한 양의 시료를 제공하도록 주의를 하여야 하며, 3회 이상 검사할 수 있는 양으로 준비하였다.
- 평가 중 다음 시료에 영향을 끼치지 않도록 입을 행굴 깨끗한 실온의 물을 준비하였다.

5. 패널 선정 및 훈련

5.1. 요약

패널이 관능평가 방법에 익숙하지 못하거나 시료에 대한 지식이 부족하여 심리적 오차가 생기지 않도록 하기 위해 주관적 편견을 최소화하고 객관적이며 신뢰성 있는 관능평가 결과를 도출할 수 있도록 패널을 훈련하는 방법이다.

5.2. 방법

5.2.1. 패널 선정

- 파프리카 관능평가를 수행하는 목적 및 중요성, 평가 실시시간, 평가 방법 등을 미리 공지한 후 선정한다.
- 선정 시 미각의 예민도를 고려하여 20세 이상 50세 미만의 성인을 대상으로 흡연여부를 문의하여 비흡연자로 선정한다.
- 관능평가 수행시간에 구애받지 않도록 시간적 여유가 있어야 하며 신체에 이상이 없는 건강한 사람으로 패널을 선정한다.
- 위와 같은 사항으로 1차 후보군을 선정한 후 정확도, 예민도를 측정하기 위해 삼점법이나 삼점검사법을 실시한다. 3점법은 3개의 시료 중 다른 하나를 알아내는 방법으로 정답률 50~60%인 자를 후보로 선정한다. 삼점검사법은 기준 시료 제시하여 평가한 후 다음에 제시한 2개의 시료 중 기준 시료와 같은 것을 알아내는 방법으로 정답률이 70~80%인 후보자를 선정한다.

5.2.2. 패널 훈련

- 선정된 패널에게 파프리카의 관능평가를 하는 목적과 필요성을 알려주어 평가에 관심과 흥미를 갖게 한다.
- 파프리카 시료에 대해 설명할 때 패널에게 시료에 대한 개인적인 생각이나 맛이나 향, 품종 등 결과에 영향을 미칠 수 있는 설명은 하지 않도록 주의한다.
- 관능평가지에 있는 용어에 대하여 설명하여 평가 시 높은 점수를 피하기 위해 중간 범위에 점수를 부여하는 중앙경향오차나 시료마다 차이가 있을 것으로 판단하여 생기는 기대오차가 생기지 않도록 한다.

5.2.3. 패널 선정을 위한 삼점검사법의 예

- 세 가지 시료를 동시에 제공하며, 검사 수행 시 제공될 수 있는 시료의 조합은 6가지(표. 3점법 결과의 예)이며 위치 및 순위 오차를 고려하여 균형 있게 또는 무작위로 배치한다.
- 패널에게 왼쪽부터 순서대로 맛보게 한 후 세 시료 중 다른 시료 하나를 고르게 한다.
- 통계분석은 통계표를 이용하여 전체 응답 수에 대한 정답수를 사용하여 유의성을 검증

표 4. 삼점검사의 유의성 검정표

검사자수	유의적 차이를 표명할 수 있는 최소 정답수			검사자수	유의적 차이를 표명할 수 있는 최소 정답수		
	a=0.05(*)	a=0.01(**)	a=0.001(***)		a=0.05(*)	a=0.01(**)	a=0.001(***)
5	4	5	-	53	24	27	29
6	5	6	-	54	25	27	30
7	5	6	7	55	25	27	30
8	6	7	8	56	25	28	31
9	6	7	8	57	26	28	31
10	7	8	9	58	26	29	31
11	7	8	9	59	27	29	32
12	8	9	10	60	27	29	32
13	8	9	11	61	27	30	33
14	9	10	11	62	28	30	33
15	9	10	12	63	28	31	34
16	9	11	12	64	29	31	34
17	10	11	13	65	29	32	34
18	10	12	13	66	29	32	35
19	11	12	14	67	30	32	35
20	11	13	14	68	30	33	35
21	12	13	15	69	30	33	36
22	12	13	15	70	31	34	37
23	12	14	16	71	31	34	37
24	13	14	16	72	32	34	37
25	13	15	17	73	32	35	38
26	14	15	17	74	32	35	38
27	14	16	18	75	33	35	39
28	14	16	18	76	33	36	39
29	15	17	19	77	33	36	39
30	15	17	19	78	34	37	40
31	16	17	19	79	34	37	40
32	16	18	20	80	35	37	41
33	16	18	20	81	35	38	41
34	17	19	21	82	35	38	42
35	17	19	21	83	36	39	42
36	18	20	22	84	36	39	42
37	18	20	22	85	36	39	43
38	18	20	23	86	37	40	43
39	19	21	23	87	37	40	44
40	19	21	24	88	38	41	44
41	20	22	24	89	38	41	44
42	20	22	24	90	38	41	45
43	20	23	25	91	39	42	45
44	21	23	25	92	39	42	46
45	21	23	26	93	39	43	46
46	22	24	26	94	40	43	46
47	22	24	27	95	40	43	47
48	22	25	27	96	41	44	47
49	23	25	28	97	41	44	48
50	23	25	28	98	41	45	48
51	24	26	28	99	42	45	48
52	24	26	29	100	42	45	49

[출처] 황인경 외 5인(2010). 식품품질관리 및 관능평가. (주)교문사. p 314

6. 평가도구

6.1. 요약

본 시험법은 생 파프리카 관능평가를 위해 개발된 관능평가지이다. 파프리카의 속성은 관련 분야의 전문가들과 수차례 브레인스토밍을 수행하고, 훈련된 패널을 대상으로 묘사분석을 실시하여 선정하였다.

6.2. 방법

6.2.1. 관능평가지

- 생 파프리카 관능평가를 위한 평가지는 외관, 질감, 맛, 풍미, 전체적 기호도의 순서로 작성되었다.
- 개발된 관능평가지는 관능평가방법 중 특성차이검사법으로 평점법으로 평가할 수 있도록 고안된 것으로 시료의 특성 강도를 항목척도를 이용하여 점수로 나타낼 수 있도록 하였다.
- 표 5. 관능평가지는 다양한 색상의 파프리카를 간격척도를 이용하여 개발한 평가지이며, 제시하는 시료에 대한 선입견을 배제하기 위해 임의의 세 자리의 숫자 코드를 부여한 후 평가를 수행한다.

[예시] 엑셀프로그램 활용하여 임의의 세 자리 숫자 코드를 생성하는 방법

- ① 엑셀시트의 셀에 =RANDBETWEEN(100,999) 입력 후 Enter
- ② 시료 개수 만큼 드래그 한 후 Enter

- 간격척도는 15cm 선척도를 이용할 수도 있다.

표 5. 항목척도를 활용한 파프리카 관능평가지의 예

파프리카 관능검사					
다음에 제시한 파프리카의 관찰 또는 맛을 보고 □칸에 번호를 표기하시오. 시료번호: 198, 350, 417					
외관(Apppearance)					
크기(size)	<input type="checkbox"/> 너무 작다	<input type="checkbox"/> 작다	<input type="checkbox"/> 보통	<input type="checkbox"/> 크다	<input type="checkbox"/> 너무 크다
색상(color)	<input type="checkbox"/> 너무 약하다	<input type="checkbox"/> 약하다	<input type="checkbox"/> 보통	<input type="checkbox"/> 강하다	<input type="checkbox"/> 너무 강하다
표면의 광택성(glossy)	<input type="checkbox"/> 너무 약하다	<input type="checkbox"/> 약하다	<input type="checkbox"/> 보통	<input type="checkbox"/> 강하다	<input type="checkbox"/> 너무 강하다
선호도(preference)	<input type="checkbox"/> 너무 나쁘다	<input type="checkbox"/> 나쁘다	<input type="checkbox"/> 보통	<input type="checkbox"/> 좋다	<input type="checkbox"/> 너무 좋다
조직감(Texture)					
경도(hardness)	<input type="checkbox"/> 너무 약하다	<input type="checkbox"/> 약하다	<input type="checkbox"/> 보통	<input type="checkbox"/> 강하다	<input type="checkbox"/> 너무 강하다
과즙성(juiciness)	<input type="checkbox"/> 너무 약하다	<input type="checkbox"/> 약하다	<input type="checkbox"/> 보통	<input type="checkbox"/> 강하다	<input type="checkbox"/> 너무 강하다
선호도(preference)	<input type="checkbox"/> 너무 나쁘다	<input type="checkbox"/> 나쁘다	<input type="checkbox"/> 보통	<input type="checkbox"/> 좋다	<input type="checkbox"/> 너무 좋다
맛(Taste)					
단맛(sweetness)	<input type="checkbox"/> 너무 약하다	<input type="checkbox"/> 약하다	<input type="checkbox"/> 보통	<input type="checkbox"/> 강하다	<input type="checkbox"/> 너무 강하다
매운맛(pungent)	<input type="checkbox"/> 너무 약하다	<input type="checkbox"/> 약하다	<input type="checkbox"/> 보통	<input type="checkbox"/> 강하다	<input type="checkbox"/> 너무 강하다
신맛(acidness)	<input type="checkbox"/> 너무 약하다	<input type="checkbox"/> 약하다	<input type="checkbox"/> 보통	<input type="checkbox"/> 강하다	<input type="checkbox"/> 너무 강하다
쓴맛(bitter)	<input type="checkbox"/> 너무 약하다	<input type="checkbox"/> 약하다	<input type="checkbox"/> 보통	<input type="checkbox"/> 강하다	<input type="checkbox"/> 너무 강하다
선호도(preference)	<input type="checkbox"/> 너무 나쁘다	<input type="checkbox"/> 나쁘다	<input type="checkbox"/> 보통	<input type="checkbox"/> 좋다	<input type="checkbox"/> 너무 좋다
풍미(flavor)					
풋내(grassy aroma)	<input type="checkbox"/> 너무 약하다	<input type="checkbox"/> 약하다	<input type="checkbox"/> 보통	<input type="checkbox"/> 강하다	<input type="checkbox"/> 너무 강하다
풋고추향(green pepper aroma)	<input type="checkbox"/> 너무 약하다	<input type="checkbox"/> 약하다	<input type="checkbox"/> 보통	<input type="checkbox"/> 강하다	<input type="checkbox"/> 너무 강하다
오이향(cucumber aroma)	<input type="checkbox"/> 너무 약하다	<input type="checkbox"/> 약하다	<input type="checkbox"/> 보통	<input type="checkbox"/> 강하다	<input type="checkbox"/> 너무 강하다
선호도(preference)	<input type="checkbox"/> 너무 나쁘다	<input type="checkbox"/> 나쁘다	<input type="checkbox"/> 보통	<input type="checkbox"/> 좋다	<input type="checkbox"/> 너무 좋다
전반적인 수용도 (Overall acceptability)					
	<input type="checkbox"/> 너무 나쁘다	<input type="checkbox"/> 나쁘다	<input type="checkbox"/> 보통	<input type="checkbox"/> 좋다	<input type="checkbox"/> 너무 좋다

표 6. 선척도를 활용한 파프리카 관능평가지의 예

		파프리카 관능검사		
다음에 제시한 파프리카의 관찰 또는 맛을 보고 선척도에 번호를 표기하십시오. 시료번호: 198, 350, 417				
외관(Appearance)				
	크기(size)	_____		
	색상(color)	너무 작다	보통	너무 크다
	표면의 광택성(glossy)	너무 약하다	보통	너무 강하다
	선호도(preference)	너무 약하다	보통	너무 강하다
		너무 나쁘다	보통	너무 좋다
맛(Taste)				
	단맛(sweetness)	_____		
	매운맛(pungent)	너무 약하다	보통	너무 강하다
	신맛(acidness)	너무 약하다	보통	너무 강하다
	쓴맛(bitter)	너무 약하다	보통	너무 강하다
	선호도(preference)	너무 약하다	보통	너무 강하다
		너무 나쁘다	보통	너무 좋다
전반적인 수용도 (Overall acceptability)				
		너무 나쁘다	보통	너무 좋다

7. 시료 준비 및 제시

7.1. 요약

본 시험법은 관능평가 시 패널에게 생 파프리카 시료의 준비 및 제시하는 방법이다.

7.2. 재료

7.2.1. 재료

- 파프리카 생과
- 관능평가용 용기
- 라벨
- 컵
- 음용수(생수)

7.3. 방법

7.3.1. 시료 준비

- 시료를 담아 패널에게 제시할 용기는 동일한 모양과 크기 및 재질의 것이어야 하며, 시료 평가에 영향이 없도록 흰색의 용기를 준비한다.
- 시료를 한 번에 여러 개 제시하여 평가할 때에는 평가자로 하여금 제시 순서 또는 제시 번호에 평가영향을 미치지 않도록 무작위로 선정한 연속성이 없는 세 자리 숫자는 엑셀 프로그램을 활용하여 표기한다(6.2. 방법 참조).

[예시] 엑셀프로그램 활용하여 임의의 세 자리 숫자 코드를 생성하는 방법

- ① 엑셀시트의 셀에 =RANDBETWEEN(100,999) 입력 후 Enter
- ② 시료갯수만큼 드래그 한 후 Enter

- 시료는 한번에 3-4회 평가할 수 있는 양을 제공하며, 매번 일정한 양(3-8개)과 크기(2×2cm 또는 1×7cm)의 시료를 제공할 수 있도록 한다.
- 생 파프리카 시료의 제시할 때 일상생활에서 섭취하는 온도로 제시한다. 냉장고에서 꺼낸 차가운 시료라든지, 더운데 장시간 둔 미지근한 시료는 평가에 영향을 미칠 수 있으므로 주의한다.

7.3.2. 시료 제시

- 난수가 표기된 관능평가용 용기에 시료를 담아 시료를 담아 제시한다. 이때 한 용기에 여러 다양한 시료를 한 번에 담지 말고 한 용기 당 한 시료씩 담아 제시한다.
- 시료 제시할 때 입을 헹굴 물을 준비하여 평가자로 하여금 한 개의 시료를 평가 후 입

을 행군 후 다른 시료를 평가할 수 있도록 한다.

- 관능평가 하는 시간은 오전 10시 또는 오후 3시에 수행하는 것이 적당하다.

8. 통계처리 및 결과정리

8.1. 요약

관능평가 수행 후 결과는 통계분석에 의해 그 유의성을 분석한다. 주로 이용되는 분석방법은 분산분석(analysis of variance, ANOVA), 상관분석(correlation analysis), 회귀분석(regression analysis), 주성분분석(principal component analysis, PCA) 등이다. 이러한 분석은 Statistical Analysis Software(SAS), Statistical Package for the Social Science(SPSS)와 같은 통계프로그램을 활용한다.

8.2. SAS 이용한 관능평가 결과 분석 사례: T-검정

T-검정(t -test)은 두 집단 간 평균의 차이 여부를 비교하고자 하는 경우 사용하는 방법이다. T-검정은 두 품종의 평균 차이를 검정하는 경우와 서로 짝지워진 쌍체 표본의 평균 차이를 검정하는 경우로 구분된다.

8.2.1. 두 품종 간 단맛 차이에 관한 관능평가 실시

- 10명의 패널들이 주황색 파프리카 생과의 품종별 단맛차이를 확인하기 위해 관능평가를 수행하였다. 준비된 주황색 파프리카 생과의 품종은 A와 B 두 품종이었으며, ‘너무 강하다’, ‘강하다’, ‘보통이다’, ‘약하다’, ‘아주 약하다’의 항목으로 구성된 항목척도로 평가하였다.
- 관능평가 후 결과의 통계분석을 위해 ‘너무 강하다’를 5점, ‘보통이다’를 3점, ‘아주 약하다’를 1점으로 하여 엑셀시트 등에 코딩작업(표 7)을 수행한다.

표 7. 평가자료

단맛	패널									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A 품종	3	3	2	2	3	3	1	2	2	2
B 품종	4	4	3	3	5	4	3	3	4	4

8.2.2. SAS 프로그램

- 주황색 파프리카 두 품종에 대해 단맛이 차이가 있는지 유의수준 5% 하에서 검정하기 위해 SAS 프로그램을 활용하여 T-검정을 수행하는 프로그램은 표 8과 같다.

표 8. SAS 프로그램과 설명

1	data BBB;	BBB라는 data set 생성.
2	input group \$ sweetness @@;	변수명을 group, sweetness라고 설정, group은 문자변수(\$), 척도값은 가로로 연속 입력(@@).
3	cards;	자료를 직접 입력.
4	A 3 A 3 A 2 A 2 A 3 A 3 A 1 A 2 A 2 A 2	주황색 파프리카 A 품종의 평가값 입력.
5	B 4 B 4 B 3 B 3 B 5 B 4 B 3 B 3 B 4 B 4	주황색 파프리카 B 품종의 평가값 입력.
6	run;	실행.
7	proc ttest;	독립표본 두 집단의 평균분석을 검정하기 위한 t-test 수행.
8	class group;	group으로 분류.
9	var sweetness;	sweetness값(종속변수)으로 group간의 평균분석.
10	run;	실행.

8.2.3. SAS 결과

```

The TTEST Procedure

Statistics

Variable group      Lower CL      Upper CL      Lower CL      Upper CL
                   N      Mean      Mean      Mean      Std Dev      Std Dev      Std Dev      Std Dev
sweetness A          10  1.8172    2.3  2.7828    0.4643    0.6749    1.2322    0.2134
sweetness B          10  3.2172    3.7  4.1828    0.4643    0.6749    1.2322    0.2134
sweetness Diff (1-2)      -2.034   -1.4  -0.766     0.51    0.6749    0.9981    0.3018

T-Tests

Variable  Method      Variances      DF  t Value  Pr > |t|
sweetness Pooled      Equal        18  -4.64   0.0002
sweetness Satterthwaite Unequal        18  -4.64   0.0002

Equality of Variances

Variable  Method      Num DF  Den DF  F Value  Pr > F
sweetness Folded F      9      9      1.00    1.0000
    
```

그림 3. SAS 결과

8.2.4. SAS 결과해석

- T-검정법은 두 집단의 평균 차이가 통계적으로 유의한지를 검증하는 방법으로 위 실험에서는 주황색 파프리카 A와 B품종의 단맛 강도가 차이가 있는지를 검증한 것이다. “두

집단의 분산이 동일하다.”라는 가설의 채택 또는 기각 여부는 다음과 같이 결정한다.

- 두 표본의 평균에 대한 검정 결과 A 품종의 단맛 강도의 평균은 2.3점 표준편차는 0.6749이며, B 품종의 평균은 3.7점, 표준편차는 0.6749로 나타났다. 등분산(equality of variances)에 대한 F-검정의 유의확률은 1.000으로 유의수준인 0.05보다 크기 때문에 두 집단은 등분산을 이룬다고 할 수 있으며, 분산이 동일하기 때문에 T-검정에서 ‘pooled’의 방법을 채택하여, T-검정의 유의확률은 0.0002으로 유의수준 0.05보다 작기 때문에 “두 집단의 분산이 동일하다.”라는 가설은 기각하며 따라서 두 품종의 단맛은 차이가 있다고 할 수 있다.
- 만약 등분산 검정에 있어서 F-검정의 유의확률이 유의수준 0.05보다 작아서 두 집단의 분산이 동일하지 않을 경우 T-test의 ‘Satterthwaite’의 방법을 택한다. 이때 자유도는 ‘Pooled’의 방법에서의 자유도와 다른 값을 지니는데 이는 ‘Satterthwaite’의 자유도 근사식을 통해 산출되었기 때문이다.

표 9. 주황색 파프리카의 품종간 단맛 비교

품종	평균±편차	유의성
A	2.3±0.67	-4.64***
B	3.7±0.67	

*** $p < 0.001$

8.3. SAS 이용한 관능평가결과 분석: 분산분석

분산분석(Analysis of Variance, ANOVA)는 3개 이상의 그룹간 평균의 차이를 비교하는 분석법으로 다수의 품종을 비교할 때 이용할 수 있는 통계방법이다. 독립변수에 따라 분석방법이 달라지나 분산분석에서는 집단이 서로 독립적이어야 하고 표본 평균의 분포가 정규 분포를 따라야 하며, 집단들은 거의 같은 분산을 가져야 한다는 가정을 하고 있다. 분석한 결과 중 어느 시료 간 차이가 있는지 알아보기 위해 던칸다중범위검정(duncan’s multiple range test)을 실시한다.

8.3.1. 3개 이상 품종의 품질 차이에 관한 관능평가 통계분석 사례

- 세 가지 다른 색상의 파프리카 A, B, C에 있어서 단맛에 차이가 있는지 알아보기 위해 훈련된 패널요원(n=10명, 훈련되지 않은 패널의 경우 30명이상)이 관능평가를 수행하였다.
- 준비된 파프리카 시료의 단맛 관능평가는 ‘너무 강하다’, ‘강하다’, ‘보통이다’, ‘약하다’, ‘아주 약하다’의 항목으로 구성된 항목척도로 평가하였다.
- 관능평가 후 결과의 통계분석을 위해 ‘너무 강하다’를 5점, ‘보통이다’를 3점, ‘아주 약하다’를 1점으로 하여 엑셀시트 등에 코딩작업(표 7)을 수행한다.

표 10. 평가자료

단맛	패널									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A 색상	3	2	3	3	3	2	3	3	2	3
B 색상	4	4	3	3	5	4	3	3	4	4
C 색상	4	3	5	4	4	3	4	5	3	3

8.3.2. SAS 프로그램

주황색 파프리카 두 품종에 대해 단맛이 차이가 있는지 유의수준 5% 하에서 검정하기 위해 SAS 프로그램을 활용하여 분산분석을 수행하는 프로그램은 표 11과 같다.

표 11. SAS 프로그램과 설명

1	data BBB;	BBB라는 data set 생성.
2	input paprika \$ sweetness @@;	paprika라는 문자변수(\$), sweetness라는 변수를 설정하고, 가로로 연속입력(@@).
3	cards;	자료를 직접 입력.
4	A3A2A3A3A3A2A3A3A2A3	파프리카색상A, 단맛강도 순으로 A색상 파프리카의 평가값 입력.
5	B4B4B3B3B5B4B3B3B4B4	파프리카색상B, 단맛강도 순으로 B색상 파프리카의 평가값 입력.
6	C4C3C5C4C4C3C4C5C4C4	파프리카색상C, 단맛강도 순으로 C색상 파프리카의 평가값 입력.
7	run;	실행.
8	proc means n mean std;	평균분석을 검정하기 위하여 proc mean이라는 프로시저를 이용하여 n(갯수), mean(평균), std(표준편차)를 산출.
9	class paprika;	독립변수는 paprika.
10	run;	실행.
11	proc anova;	proc anova라는 프로시저를 이용하여 분산분석 수행.
12	class paprika;	독립변수는 paprika.
13	model sweetness=paprika;	종속변수는 sweetness.
14	means paprika/duncan;	각 파프리카 단맛의 평균값을 토대로 출력하고 사후분석은 duncan 방법을 이용.
15	run;	실행.

8.3.3. SAS 결과

```

The MEANS Procedure
분석 변수 : sweetness

paprika 관측치 수 N 평균값 표준편차
-----
A      10 10  2.7000000  0.4830459
B      10 10  3.7000000  0.6749486
C      10 10  4.0000000  0.6666667
-----

The ANOVA Procedure
Class Level Information
Class Levels Values
paprika      3  A B C

Number of observations 30

The ANOVA Procedure
Dependent Variable: sweetness

Source          DF      Sum of Squares      Mean Square      F Value      Pr > F
Model           2      9.26666667           4.63333333      12.26      0.0002
Error          27     10.20000000           0.37777778
Corrected Total 29     19.46666667

R-Square      Coeff Var      Root MSE      sweetness Mean
0.476027     17.72989      0.614636      3.466667

Source          DF      Anova SS      Mean Square      F Value      Pr > F
paprika         2      9.26666667           4.63333333      12.26      0.0002

The ANOVA Procedure
Duncan's Multiple Range Test for sweetness
노트: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha          0.05
Error Degrees of Freedom      27
Error Mean Square      0.377778

Number of Means      2      3
Critical Range      .5640      .5926

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping      Mean      N      paprika
A      4.0000      10      C
A
A      3.7000      10      B
B      2.7000      10      A

```

그림 4. SAS 분산분석 결과

8.3.4. SAS 결과 해석

- 파프리카 A, B, C 색상의 단맛 강도에 대한 분산분석 결과 F-값은 12.26이고, p-값 (0.0002)은 유의수준 0.05보다 작으므로 “A, B, C, 색상 파프리카에서 단맛 강도의 평균

은 같다”라는 귀무가설을 기각한다. 즉, 파프리카 색상 간 단맛 강도의 유의적인 차이가 있다.

- 파프리카 단맛의 유의적인 차이가 어떤 색상 간에 있는지 알아보기 위하여 duncan의 다중범위 사후분석을 실시한 결과, C색상의 파프리카가 유의적으로 가장 높은 단맛 강도를 보였으며, A색상의 파프리카가 유의적으로 가장 낮은 강도를 보였다.
- B색상의 파프리카의 경우 단맛 강도의 평균값이 C색상의 파프리카보다는 낮았으나 통계적 유의차를 나타내지 않았으며, A색상의 파프리카와는 통계적 유의차를 보였다.

8.3.5. 표와 그림으로 나타내기

- 각 속성에 대한 결과는 표나 그림으로 나타낼 수 있다. 관능평가 후 데이터는 서로 다른 패널에 의해 평가된 동일한 시료의 데이터를 평균과 표준편차를 산출하여 평균±표준편차로 나타낸다.
- 표 9를 보면, 적색, 주황색, 노란색 파프리카 각각 2품종씩 관능속성을 비교한 결과로 평균과 표준편차를 나타내었으며, 표준편차 옆에 위첨자로 알파벳이 표기되어 있다. 이는 던칸다중범위검정(duncan's multiple range test)를 통해 시료간의 차이를 분석한 결과이다.

표 12. 적색, 노란색, 주황색 파프리카의 품종별 관능평가의 예

Table 6. Sensory characteristics of blocky type paprika by color and cultivar¹⁾²⁾³⁾

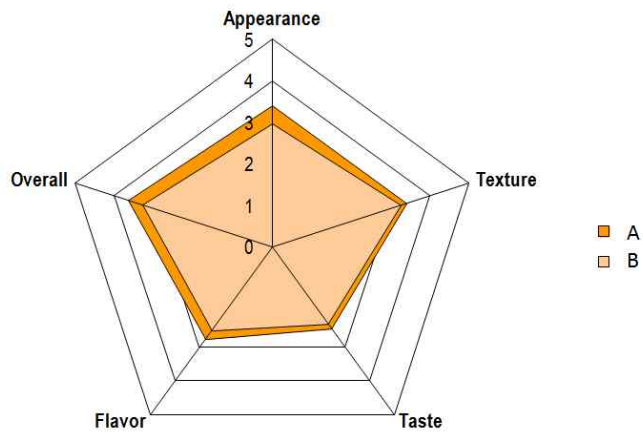
Color	Cultivar	Appearance			Texture		Taste			Flavor		Overall acceptability
		Size	Color	Glossy	Hardness	Juiciness	Sweetness	Pungent	Bitter	Green pepper aroma	Cucumber aroma	
Red	Nagano	3.17± 0.53 ^c	3.63± 0.72 ^a	3.47± 0.63 ^a	3.40± 0.77 ^{ab}	2.92± 0.86 ^{bc}	2.92± 0.86 ^{bc}	1.73± 0.91 ^a	1.80± 0.92 ^a	2.43± 0.86 ^b	2.96± 0.82 ^a	3.07± 0.68 ^{bc}
	Preludium	3.90± 0.55 ^a	3.87± 0.63 ^a	3.43± 0.90 ^a	3.37± 0.61 ^{ab}	2.90± 0.84 ^{ab}	2.90± 0.84 ^{bc}	1.74± 0.81 ^a	1.89± 0.88 ^a	3.10± 0.61 ^a	2.83± 0.80 ^a	3.33± 0.76 ^{ab}
Orange	Mazzona	2.60± 0.50 ^d	2.83± 0.70 ^b	2.97± 0.81 ^{bc}	3.47± 0.78 ^{ab}	3.28± 0.96 ^c	3.28± 0.96 ^{ab}	1.56± 0.58 ^a	1.54± 0.65 ^a	2.84± 0.88 ^{ab}	2.21± 0.96 ^b	3.30± 0.92 ^{ab}
	Orange Star	3.59± 0.57 ^b	3.72± 0.45 ^a	3.41± 0.57 ^a	3.14± 0.83 ^{bc}	3.66± 0.67 ^a	3.66± 0.67 ^a	1.65± 0.75 ^a	1.72± 0.80 ^a	2.92± 0.84 ^a	3.04± 0.84 ^a	3.66± 0.94 ^a
Yellow	Sven	2.63± 0.72 ^d	3.60± 0.56 ^a	3.13± 0.86 ^{ab}	3.57± 0.63 ^a	2.43± 0.97 ^c	2.43± 0.97 ^c	1.71± 0.85 ^a	1.88± 0.88 ^a	2.96± 0.88 ^a	2.86± 0.76 ^a	2.78± 0.77 ^c
	Coletti	3.90± 0.55 ^a	2.57± 0.73 ^b	2.63± 0.61 ^c	2.97± 0.76 ^c	3.10± 0.99 ^{ab}	3.10± 0.99 ^b	1.70± 0.84 ^a	1.63± 0.72 ^a	2.85± 0.86 ^{ab}	2.57± 0.94 ^{ab}	3.50± 0.68 ^{ab}

¹⁾ All results are expressed as mean±S.D. for forty participants.

²⁾ Means with different letters within a column are significantly different at $p<0.05$ as determined by Duncan's multiple range test.

³⁾ 5 score scale (1: very small, 3: moderate, 5: very large).

[출처] Lee S.M., Kim J.S., An C.G., Park J.S., Kim S (2016). Assessment of paprika quality by instrumental parameters and sensory attributes. J. East. Asian Soc. Dietary Life 26(1):34-43



[출처] Kim J.S., Kim S. Quality assessment of fresh paprika by sensory evaluation and instrumental analysis. 2015 춘계연합학술대회. The East Asian Society of Dietary Life. Seoul. FCH-5

그림 4. 주황색 파프리카의 품종별 관능평가 결과의 스파이더웹

UPLC를 이용한 색상별 파프리카 유래 카로티노이드의 정량적 평가

황정록 · 황인경 · 김신아^{1*}

Quantitative Analysis of Various Carotenoids from Different Colored Paprika Using UPLC

Jeong Rok Hwang, In Kyeong Hwang, and Suna Kim^{1*}

Department of Food and Nutrition, College of Human Ecology, Seoul National University

¹Department of Home Economics, College of Natural Science, Korea National Open University

Abstract This study aimed to simultaneously determine various carotenoids from different colored paprika using an ultra performance liquid chromatograph (UPLC) equipped with a HSS T3 column. Analysis was performed at 450 nm using gradient conditions with acetonitrile/methanol/methylene chloride (65/25/10) and distilled water. We improved the peak resolution and performed carotenoid analysis within 30 min. We qualitatively analyzed 11 carotenoids (neoxanthin, capsorubin, violaxanthin, capsanthin, zeaxanthin, lutein, α -cryptoxanthin, β -cryptoxanthin, lycopene, α -carotene, and β -carotene). For the validation of UPLC methods, we validated the precision and accuracy of capsanthin. Capsanthin showed good linearity ($R^2=0.9998$) in the concentration range of 1-200 $\mu\text{g/mL}$ with 2.4 and 7.2 $\mu\text{g/mL}$ of limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ), respectively. The relative standard deviation (RSD) for intra- and inter-day precision was less than 3.83%. Recovery was in the range of 91.86-99.87%. We quantitatively analyzed carotenoid contents from 8 different colored paprika (red, orange, yellow, and green). The most abundant carotenoids were capsanthin in red paprika, and zeaxanthin in orange, yellow, and green paprika.

Keywords: carotenoid, paprika, UPLC, capsanthin, zeaxanthin, lutein

서 론

카로티노이드(carotenoids)는 식물과 미생물에 의해 합성되는 붉은색, 주황색, 노란색 계열의 지용성 색소로서 polyisoprenoid 구조를 갖는 물질이다. 인간은 체내에서 카로티노이드를 합성할 수 없으므로 식이를 통해 섭취해야 한다. 카로티노이드는 산소 라디칼과 일중량 산소를 소거하는 항산화 작용을 하며(1,2) 면역 증진 및 암, 심혈관 질환, 백내장, 황반 변성과 같은 퇴행성 질환에 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다(3-5). 또한 일부 카로티노이드는 비타민 A의 전구체로서, 비타민 A를 공급하는 역할을 하며, 식물체에서는 성장과 발달 조절 작용과 함께 생합성에 관여하며, abscisic acid와 같은 호르몬의 전구체 역할을 한다(6).

HPLC 분석법은 카로티노이드를 정량적으로 분석하기 위해 많이 사용되는 방법 중의 하나이다. 그러나 카로티노이드는 지용성이고 구조가 매우 유사하여 분리능이 떨어지며, 실제로 노인성 황반변증의 위험을 낮추는 것으로 보고되고 있는 lutein과 zeaxanthin은 HPLC로 완전히 분리되지 않아 정량적으로 평가하기에

어려움이 있어 왔다(7-9). UPLC (ultra performance liquid chromatography)는 HPLC보다 증진 입자의 크기가 1.7-1.8 μm 로 작으며 높은 압력(최대 15000 psi)에서 분석을 하기 때문에 분석 시간을 단축하고 분리능을 높일 수 있다. Liu 등(10)은 HPLC와 UPLC를 이용하여 마리골드로부터 lutein과 zeaxanthin을 분석하는 연구를 통해 UPLC로 분석을 하면 시간을 50% 이상 감소시켰고 두 카로티노이드를 완전히 분리하여 분리능 개선에도 효과적임을 보고하였다. Fu 등(11)은 *Dunaliella salina*로부터 UPLC/MS를 이용하여 19종의 카로티노이드를 동정하였고 이 중에서 lutein이 가장 많이 함유되어 있었으며 검출한계 값과 정밀성을 검증하였다. Chauveau-Duriot 등(12)은 UPLC를 이용하여 xanthophylls의 분리능을 향상시켰으며 lutein과 zeaxanthin, β -carotene의 isomer를 분리하고 그 방법을 검증하였으나 시간을 단축하지는 못하였다. Murillo 등(13)은 C30 컬럼이 장착된 HPLC-DAD-MS를 이용하여 알데 과일로부터 32종의 카로티노이드를 분석하였는데 130분의 분석 시간이 소요되는 결과를 보고하였다.

파프리카는 비타민 C와 E, 토코페롤이 풍부한 과채류로 매우 맛은 약하고 단맛이 강하여 샐러드 및 생과로 이용되고 있다. 파프리카는 색상별로 다양한 카로티노이드가 과량 함유되어 있다. 적색과에서는 capsanthin과 capsorubin, 주황색과에서는 β -carotene, 노란색과에서는 zeaxanthin과 β -cryptoxanthin, 녹색과에서는 lutein 등이 대표적인 색소로 보고되고 있다(14). Kevrecan 등(15)은 *Capsicum* 종으로부터 Zorbax SB C18 컬럼이 장착된 HPLC-DAD를 이용하여 32종의 carotenoids를 동정하였으나 capsorubin, violaxanthin, capsanthin, antheraxanthin의 피크가 분리되지 않아 속성과

*Corresponding author: Suna Kim, Department of Home Economics, College of Natural Science, Korea National Open University, Seoul 110-791, Korea

Received June 11, 2014; revised December 29, 2014; accepted December 30, 2014



Optimization by response surface methodology of lutein recovery from paprika leaves using accelerated solvent extraction



Jae-Hyun Kang^a, Suna Kim^b, BoKyung Moon^{a,*}

^a Department of Food and Nutrition, Chung-Ang University, Anseong-si, Gyeonggi-do 456-756, Republic of Korea

^b Food and Nutrition in Home Economics, Korea National Open University, 169 Dongsung-Dong, Jungno-Gu, Seoul 110-791, Republic of Korea

ARTICLE INFO

Article history:

Received 9 December 2015

Received in revised form 3 March 2016

Accepted 3 March 2016

Available online 4 March 2016

Keywords:

Paprika leaves

Lutein

Accelerated solvent extraction (ASE)

Response surface method (RSM)

Ultra performance liquid chromatography

(UPLC)

ABSTRACT

In this study, we used response surface methodology (RSM) to optimize the extraction conditions for recovering lutein from paprika leaves using accelerated solvent extraction (ASE). The lutein content was quantitatively analyzed using a UPLC equipped with a BEH C18 column. A central composite design (CCD) was employed for experimental design to obtain the optimized combination of extraction temperature (°C), static time (min), and solvent (EtOH, %). The experimental data obtained from a twenty sample set were fitted to a second-order polynomial equation using multiple regression analysis. The adjusted coefficient of determination (R^2) for the lutein extraction model was 0.9518, and the probability value ($p = 0.0000$) demonstrated a high significance for the regression model. The optimum extraction conditions for lutein were temperature: 93.26 °C, static time: 5 min, and solvent: 79.63% EtOH. Under these conditions, the predicted extraction yield of lutein was 232.60 µg/g.

© 2016 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Paprika (*Capsicum annuum* L.) has been cultivated in many countries. The uses of it range from being a fresh vegetable to a condiment because of its colors, while other functions include being ingredients for some foods such as soups, stews, sausages, salad dressings, and sauces (Nieto-Sandoval, Fernandez-Lopez, Almela, & Munoz, 1999; Silva, Azevedo, Pereira, Valentao, & Andrade, 2013). Furthermore, blanched young leaves of *Capsicum* spp. have been dietary eaten as side dishes in Korea (Kim et al., 2011). Increasing paprika consumption has led to the discarding problem of paprika leaves and stems. However, paprika leaves have amounts of lutein and tocopherol than paprika (Kim et al., 2011). Some of the possible usages of these paprika leaves are biological functions including free radical scavenging, antimicrobial, and tyrosinase inhibitory activities (Kim & Kim, 2012; Ma et al., 2012). Although these potential usages for paprika leaves exist, detailed research on these paprika leaves and their biological activity is not yet fully available.

Lutein, an oxygenated carotenoid, is in some types of food including egg yolks, dark green leafy vegetables, and colored fruits. Research shows that the lutein in these types of foods can help eye health (Ma et al., 2012; Vishwanathan, Neuringer, Max Snodderly,

Schalch, & Johnson, 2013). It is distributed ubiquitously in body tissues and tends to be the dominant carotenoid in central nervous tissues. Lutein, along with zeaxanthin, is a main carotenoid in the macula of primate retina that acts as a blue-light filter and antioxidant, and might combat age-related macular degeneration (AMD), a leading cause of visual impairment and blindness in the United States (Johnson & Record, 2014).

Accelerated solvent extraction (ASE) is an automated extraction technique that uses elevated temperatures and pressures to achieve efficient extraction in very short time. In addition, this technique eliminates many manual steps involved in preparing food samples for analysis, which helps ensure increased reproducibility and accelerates the process significantly (Richter, Jones, Ezzell, & Porter, 1996). As the temperature increases, several changes occur to the extraction in relation to the heat. As the temperature increases, the solubility and diffusion rates of the extracting solvents increase. On the other hand, solvent viscosities and solute–matrix interactions decrease (Jentzer, Alignan, Vaca-garcia, Rigal, & Vilarem, 2015). Compared to the conventional extraction (CE) techniques, ASE has more advantages, including a higher automation, extraction yields, and recovery of target compounds (Heo, Kim, Kang, & Moon, 2014). Other advantages of using ASE include a lower solvent volume (15–40 mL), shorter extraction time (15–20 min), and lower toxicity of solvents compared with other CE methods. ASE also utilizes nontoxic solvents like ethanol, water or carbon dioxide (Kukla-Koch et al., 2013). Furthermore, if

* Corresponding author.

E-mail address:

B. Moon

파프리카 품종별 색상별 특성 비교를 위한 기기적, 관능적 품질 지표 평가

이선미¹ · 김지선² · 안철근³ · 박종숙⁴ · 김선아^{2*}

¹경일대학교 식품과학부, ²한국방송통신대학교 가정학과, ³경남농업기술원, ⁴전북농업기술원

Assessment of Paprika Quality by Instrumental Parameters and Sensory Attributes

Sun Mee Lee¹, Ji-Sun Kim², Chul Geon An³, Jong-Suk Park⁴ and Suna Kim^{2*}

¹Dept. of Food Science, Kyungil University, Gyeongsan 38428, Republic of Korea

²Dept. of Home Economics, College of Natural Science, Korea National Open University, Seoul 03087, Republic of Korea

³Gyeongnam Agricultural Research & Extension Service, Jinju 52733, Republic of Korea

⁴Fruit Vegetable Research Institute, Jeonbuk Agricultural Research & Extension Services, Gwangju 570-913, Republic of Korea

ABSTRACT

This study was performed to improve the quality index of paprika by assessment of instrumental test and sensory attributes. Red paprika (11 cultivars), orange paprika (9 cultivars), and yellow paprika (10 cultivars) were provided by GyeongNam (GN) and Jeonbuk Agricultural Research and Extension Services (JB). We measured hardness and color values using a colorimeter and TPA as well as developed new terminology such as cucumber taste, grass taste, green pepper flavor and appearance (size, color size, color, and glossiness), texture (hardness, juiciness), and taste (sweetness, pungency, sourness) to describe paprika quality attributes by trained panels. a^* value of red 'Nagano' cultivar provided by JB was significantly low, and only b^* value of orange paprika was significantly different among the samples. In the case of yellow paprika, b^* values were not significantly different, and hardness was significantly different. Overall color values were different among samples provided by GN. Oranos, orange paprika, L value, b value, and hardness were different among the samples. Bitterness was negatively correlated with sweetness and positively correlated with green pepper aroma ($p < 0.05$). Overall acceptability was positively correlated with size, juiciness, and sweetness ($p < 0.01$) and negatively correlated with pungent ($p < 0.05$) and bitterness ($p < 0.01$). In conclusion, negative attributes such as bitterness and pungency as well as positive attributes such as size, juiciness, and sweetness must be considered as important factors for consumer preference and breeding of new cultivars.

Key words: Paprika, quality, bitterness, hardness, color value

서 론

파프리카(paprika)는 중남미가 원산지로서 sweet pepper, bell pepper로도 불리며, 맵지 않은 *Capsicum annuum* 종에 속한다 (Lee SO *et al* 2002). 파프리카는 외국에서는 건조 분말이나 파프리카 올레오레진 등의 향신료 형태로 많이 사용되고 있는 반면, 국내에서는 90% 이상을 생파프리카 형태로 소비하고 있어 생산자와 소비자 모두 신선한 파프리카의 식품영양학적 가치뿐만 아니라, 풍미와 과즙성 등 관능적 특성에 관심이 높다. 파프리카는 수분 함량이 약 90%로 풍부한 과즙과 두꺼운 과피로 식감이 우수할 뿐 아니라, vitamin C와 α -tocopherol 함량과 더불어 적색 파프리카의 capsanthin, 주황색 파프리카의 β -carotene, 노란색 파프리카의 lutein 등 카로티노이드

가 풍부하게 함유되어 있어 건강식을 지향하면서도 관능적인 만족감을 추구하는 소비자의 기호에 부합하는 대표적인 과채류로 소비되고 있다(Jeong CH *et al* 2006; Kim JS *et al* 2011).

현재 우리나라는 파프리카는 과경이 9~10 cm인 블로키 타입이 주로 유통되고 있으며, 소비자의 다양한 요구에 부합하기 위한 품종개발의 노력으로 먹기 좋은 한입 크기(20~40 g)의 코넵 타입의 미니파프리카 재배량이 크게 증가하고 있다(Shetha SL *et al* 2011). 또한 재배 방식에 있어서도 기존의 유리온실을 이용한 수경재배뿐만 아니라, 비닐하우스를 가진 소규모 생산 농가를 위한 토경재배도 크게 증가하는 등 다양한 종자가 보급되고 있다(Sardare MMD & Admane MSV 2013).

과채류의 품질은 등급에 따라 가격이 형성되며, 이는 농가의 소득 증대 및 소비자의 구매도와 상관성이 매우 높고 고품질 과채류 생산에 따른 수확 시기 및 수확 후 관리의 지표

* Corresponding author : Suna Kim,



Carotenoid profiling from 27 types of paprika (*Capsicum annuum* L.) with different colors, shapes, and cultivation methods



Ji-Sun Kim^a, Chul Geon An^b, Jong-Suk Park^c, Yong Pyo Lim^d, Suna Kim^{a,*}

^a Department of Home Economics, College of Natural Science, Korea National Open University, Seoul 110-791, Republic of Korea

^b Gyeongnam Agricultural Research & Extension Services, Jinju 52733, Republic of Korea

^c Fruit Vegetable Research Institute, Jeonbuk Agricultural Research & Extension Services, Gansan 570-913, Republic of Korea

^d Molecular Genetics and Genomics Lab, Department of Horticulture, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Republic of Korea

ARTICLE INFO

Article history:

Received 14 October 2015

Received in revised form 4 January 2016

Accepted 10 January 2016

Available online 11 January 2016

Keywords:

UPLC

Carotenoids

Paprika

Zeaxanthin

Cultivation

ABSTRACT

In this study, we investigated carotenoid profiles and contents from 27 types of paprika with different colors (red, orange, and yellow), shapes (blocky and conical), and cultivation methods (soil and soilless). We simultaneously analyzed 12 kinds of carotenoids using UPLC equipped with an HSS T3 column for 30 min, and we identified six kinds of carotenoids in red paprika and nine types in orange and yellow paprika. Zeaxanthin concentrations in orange paprika were in the range of 85.06 ± 23.37 – 151.39 ± 5.94 mg/100 g dry weight (dw), which shows that orange paprika is a great source of zeaxanthin. Generally, red paprika is a great source of capsanthin. However, a new cultivar, 'Mini Goggal Red', contained large amounts of zeaxanthin (121.41 ± 30.10 mg/100 g dw) even though its visible color is red. This is very meaningful considering that consumers have a preference for red color and the potent functional value of zeaxanthin. Carotenoid profiles and concentrations in blocky and conical type paprika were not significantly different in red paprika except the 'Mini Goggal Red' cultivar and yellow paprika. Blocky type orange paprika contains plenty of zeaxanthin, unlike conical type orange paprika. Three new cultivars of the conical type were cultivated in both soil culture and soilless culture in the same province, and carotenoid profiles and concentrations were similar, showing that both cultivations methods can be used.

© 2016 Published by Elsevier Ltd.

1. Introduction

Paprika (*Capsicum annuum* L.) is a very attractive vegetable in consumers having various colors such as red, yellow, green and orange, as well as including various phytochemicals like ascorbic acid, tocopherol, carotenoids, and flavonoids (Kim, Ahn, Ha, Rhee, & Kim, 2011). Traditionally in Korea, hot red pepper varieties have been eaten as a main ingredient of *kimchi* and *kochujang* as well as diverse side dishes, and symbolized unique Korean hot foods (Oh et al., 2011). Interestingly, paprika, even though same scientific name with hot red pepper, was introduced in the early 1990s as a fresh eaten vegetable, and nowadays, it has become a chief export vegetable in agriculture (Jeong, Kim, Kim, & Yun, 2008). Recently, breeders have concerns about developing new paprika cultivars as fresh eaten vegetables.

From the beginning, paprika has been grown using hydroponics in glass greenhouses. It provides a high return for farmers, and red paprika, including capsanthin and capsorubin, has been the most widely consumed. Currently, paprika cultivation can be performed in different ways, and different colors of paprika can be grown. Various cultivation methods have been tested to reduce the cost of production by supplying cheap and outstanding seeds and by spreading efficient farming technology. Recently, mini paprika strains weighing only 20–40 g have come on the market, and they have become popular because of their reasonable price and good quality (Shrestha, Luitel, & Kang, 2011). Hydroponics, a soilless culture method, uses mineral nutrient solutions and grows plants in a glass greenhouse, which is less affected by climate change and natural resource limitations, but is more costly than conventional soil culture (Sardare & Admane, 2013). However, small farmers tried to cultivate paprika in plastic greenhouses to reduce production costs, even though hydroponics are expected to be more popular in the future. Plant breeders try to develop new cultivars that can be grown in both soil and soilless culture.

* Corresponding author. Address: Department of Home Economics, College of Natural Science, Korea National Open University, Seoul 110-791, Korea.

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부·해양수산부·농촌진흥청·산림청에서 시행한 GSP사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림축산식품부·해양수산부·농촌진흥청·산림청에서 시행한 GSP사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.