

고추의 카로티노이드 함량 분석을 위한 신속·간편 마이크로플레이트법

홍순철^{1†} · 한정현^{1†} · 이준대¹ · 안윤균² · 양은영² · 채수영² · 김 수² · 윤재복^{1*}

¹(주)고추와 육종 기업부설연구소, ²국립원예특작과학원 채소과

A Simple and Fast Microplate Method for Analysis of Carotenoids Content in Chili Pepper (*Capsicum annuum* L.)

Sun Chul Hong^{1†}, Jung-Heon Han^{1†}, Jundae Lee¹, Yul Kyun Ahn², Eun-Young Yang²,
Soo Young Chae², Su Kim², and Jae Bok Yoon^{1*}

¹Research & Development Unit, Pepper & Breeding Institute, Business Incubator,
Seoul National University, Suwon 441-853, Korea

²Vegetable Research Division, National Institute of Horticultural & Herbal Science,
Rural Development Administration, Suwon 440-706, Korea

Abstract. In this study, we aimed to develop a simple analysis method for measuring the carotenoids content of pepper powder. A 96-wells polystyrene microplate and an ELISA reader were used for analysis. Although ELISA reader with 450 nm filter was applicable to measure carotenoid contents, the surface of microplates were degenerated by acetone used for carotenoids extraction. However, ten-fold dilute of the color extract with methanol did not affect the surface of polystyrene microplate and components of the color extract could be successfully measured by a ELISA reader, showing a high correlation with ASTA-20.1 method. In addition, this method uses 10 fold less acetone than ASTA-20.1 method resulting less acetone waste. The microplate method using ELISA reader has potential power for analyzing a large number of samples which may be very useful to the practical breeding program for high-colored peppers.

Additional key words: breeding, quality, selection

서 언

고추의 품질을 좌우하는 요소는 색도와 맛 성분으로 고추에 대한 선호도는 이들 색소와 맛 성분에 의해 영향을 받는 것으로 알려져 있다(Lee et al., 1992). 고추의 붉은 색소는 주로 캡산틴이고, β -카로틴, 루테인(leutein), 크립토산틴(cryptoxanthin) 등이다(Jung et al., 2008).

카로티노이드는 항산화, 항암, 심장병 예방, 노인성 황반변성 등을 억제하는 효과가 있어(Cooper, 2004; Mozaffarieh et al., 2003; Snodderly, 1995), 고색소 고추 품종에 대한 소비자의 욕구가 증가하고 있다. 고색소 고추 품종을 효율적으로 육성하기 위해서는 적합한 색소 분석법이 필요한데, 색소

분석에는 HPLC법(high-performance liquid chromatography) (Giuffrid et al., 2011; Gregory et al., 1987), 색차계(colorimeter)를 이용하는 CIE법(the Commission Internationale de l'Eclairage method)(CIE, 1986), 미국양념무역협회(ASTA, American Spice Trade Association)에서 공인한 ASTA-20.1법(ASTA, 1968)이 이용된다. HPLC법과 CIE법은 각각 고춧가루의 색소성분과 색상 분석에 적합하고, ASTA-20.1법은 색소 총합량 분석에 유용하다(Kweon et al., 2006). 고추품종 육성 현장에서는 일반적으로 총적색소 함량을 ASTA-20.1법으로 분석하지만, 시료당 분석 시간이 길고 색소추출 과정에 발생하는 폐액(시료당 아세트론 100mL) 처리에 많은 어려움이 있다.

*Corresponding author: yoonjb2@snu.ac.kr

[†]These authors were equally contributed in this work.

※ Received 21 August 2012; Revised 1 July 2013; Accepted 3 July 2013. 본 연구는 농촌진흥청 차세대바이오그린21사업(과제번호: PJ008024022012)의 지원에 의해 수행되었음.

© 2013 Korean Society for Horticultural Science

본 연구에서는 이러한 문제점을 해결하여 고색소 고추 품종 육성에 실용적으로 활용할 수 있도록 96-well 폴리스틸렌 마이크로플레이트(96-well polystyrene microplate)와 ELISA 판독기를 이용한 고춧가루의 총적색소 분석 방법을 개발하고자 하였다.

재료 및 방법

분석 시료 준비

본 실험에서는 고추 과실의 총적색소를 분석을 위해 국내 종묘회사에서 분양 받은 고색소 품종인 419 조합(F₁)과 이의 F₂ 분리세대와 자체적으로 육성한 30종의 F₁ 교배조합을 실험 재료로 사용하였다. 각 재료는 수원의 실험포장에 정식하고 10월 중순경에 개체당 5개씩 적과를 수확하였다. 시료용 고춧가루는 수확한 적과를 65°C 고온 건조기에서 10시간 이상 건조한 다음 꼭지와 종자를 제거한 과육 부분을 가정용 믹서기(Pilips Miniblender HR2870, the Netherlands)로 곱게 마쇄하여 준비하였다. 고춧가루는 습기가 들어가지 않도록 지퍼백에 넣고 밀봉한 다음 4°C 냉장고에 보관하고 분석 시 꺼내어 사용하였다.

ASTA-20.1법

고추의 카로티노이드 함량은 ASTA-20.1법(ASTA, 1968)에 따라 다음과 같이 분석하였다. 고춧가루 0.1g을 흑갈색의 250mL 폴리에틸렌 병에 넣고 아세톤 100mL을 첨가한 후 8시간 교반한 다음 30분간 정치하였다. 상층액 3mL을 4mL cuvette(HELLMA 100.600-QC, Germany)에 분주하고 분광광도계(Shimadzu UV mini 1240, Japan)를 이용하여 460nm에서 흡광값을 측정하였다. 측정된 흡광값은 아래 계산식을 사용하여 ASTA값으로 변환하였다.

$$\text{ASTA color value} = \frac{\text{Absorbance of acetone extracts} \times 16.4}{\text{Sample weight (g)}}$$

카로티노이드 측정용 파장 비교

특정 파장만 사용 가능한 필터 방식의 ELISA 판독기를 이용할 수 있도록 카로티노이드 측정에 적합한 파장을 비교하였다. 이를 위해 419 F₂의 고춧가루 가운데 색의 진하기가 다른 11개 시료를 육안으로 선별하여 재료로 사용하였다. ASTA-20.1법에 따라 시료를 준비한 다음 400nm, 450nm, 460nm에서 흡광값을 측정하였다. 시료당 추출과 측정을 3회 반복하였고, 각 시료의 평균값과 SAS 프로그램(v. 9.1, Cary, NC, USA)의 던컨다중검정법을 이용하여 5% 수준에

서 유의성을 검정하였다.

마이크로플레이트 보호용 용매 탐색

3차 증류수, 에탄올, 메탄올의 마이크로플레이트 보호 효과를 조사하고자, 각각의 용매로 카로티노이드 추출 용매인 아세톤을 2배, 4배, 10배, 20배로 희석하였다. 희석액 200μL를 마이크로플레이트 용기에 첨가하고, 첨가 직후, 10분, 20분, 30분 경과 시점에서 ELISA 판독기(MRC Microplate Reader UT-2100C, Israel)로 450nm의 흡광값을 측정하였다.

카로티노이드 추출 시료의 희석 비율 결정

ASTA-20.1법으로 419 조합의 F₂ 분리세대 200개의 흡광값을 측정한 다음 흡광값별로 15개 고춧가루 시료를 임의로 선별하여 실험재료로 사용하였다. ASTA-20.1법에 따라 각 시료에서 카로티노이드를 추출한 다음 추출액을 메탄올로 10배, 20배, 50배 희석하였다. 각각의 희석액을 200μL씩 마이크로플레이트에 분주하고 ELISA 판독기를 이용해 450nm에서 흡광값을 측정하였다. 시료당 추출과 측정을 3회 반복하였고, 각 시료의 평균값과 SAS 프로그램(v. 9.1, Cary, NC, USA)의 던컨다중검정법을 이용하여 5% 수준에서 유의성을 검정하였다.

아세톤 사용량과 추출시간 비교

공시한 419 F₂ 가운데 10개 고춧가루를 무작위로 선별하고 2가지(A와 B 처리구) 방법으로 카로티노이드를 추출하였다. A 처리구는 ASTA-20.1법처럼 250mL 폴리에틸렌 병에 고춧가루 0.1g, 아세톤 100mL을 첨가하였고, B처리구는 15mL 원심분리용 튜브에 고춧가루 0.1g, 아세톤 10mL을 첨가하였다. 실온에서 4시간 동안 교반한 다음, 450nm에서 분광광도계를 이용하여 추출액의 흡광값을 조사하였다. 이때 A와 B처리구에서는 각각 추출원액과 원액을 메탄올로 10배 희석한 용액을 사용하였다.

카로티노이드 추출에 적합한 시간은 임의로 선별한 8개 고춧가루를 재료로 조사하였다. 시간을 제외한 나머지 조건은 B처리구와 동일한 방법으로 수행하였으며, 각 시료의 흡광값은 고춧가루 0.1g에 아세톤 10mL을 넣고 잠시 교반한 직후와 2시간, 4시간, 6시간, 8시간 후에 측정하였다.

Microplate법의 활용성 비교

ASTA-20.1법과 Microplate법의 측정값 비교를 통해 Microplate법으로 고색소 개체 선별이 가능한지를 조사하였다. 공시한 F₁ 조합 30개체의 고춧가루를 재료로 A처리구(ASTA-20.1법) 및 B처리구(Microplate법)와 동일한 방법으로 카로티노

이드를 추출하였다. 각 시료의 흡광값은 450nm에서 분광광도계(ASTA-20.1법)와 ELISA 판독기(Microplate법)로 측정하였다.

결과 및 고찰

ELISA 판독기는 scanning 방식과 필터 방식이 있다. 파장 조절이 가능한 scanning 방식의 ELISA 판독기에서는 ASTA-20.1법처럼 460nm에서 흡광값 측정이 가능하지만, 450nm와 405nm 필터가 주로 장착된 필터 방식의 ELISA 판독기로도 카로티노이드 함량 측정이 가능한지를 조사하였다. 460nm와 450nm에서 측정된 평균값은 11개 시료 모두에서 유의성이 있었으나, 460nm와 405nm에서 측정된 시료의 평균값에는 전혀 유의성이 없는 것으로 나타났다(Table 1). 460nm에서 측정된 흡광값은 450nm에서 측정된 값보다 다소 높게 나타나는 경향을 보였고, 4개 시료(S1, S2, S7, S9)에서는 비슷한 경향을 보여 460nm뿐만 아니라 450nm에서도 카로티노이드 측정이 가능함을 확인하였다(Table 1).

카로티노이드 추출용 용매인 아세톤은 ELISA 판독기용 용기인 마이크로플레이트(96 wells-polystyrene microplate)의 표면을 변성시킴으로써 450nm 파장의 빛이 정상적으로 투과되는 것을 방해한다(Han et al., 2012). 식용유로 카로티노이드 추출액을 4배 희석한 용액은 마이크로플레이트의 표면을 변성시키지 않는데(Han et al., 2012), 색소측정 시 식용유의 점성 때문에 작업효율이 떨어진다는 단점이 있었다. 이러한 문제를 해결하고자 본 연구에서는 실험실에서 쉽게 구할 수 있고 점성이 낮은 3가지 용매(3차 증류수, 에탄올,

메탄올)의 마이크로플레이트 보호 효과를 조사하였다.

3차 증류수와 아세톤 5% 처리구의 흡광값은 분주 직후 0.0343이었고, 10분, 20분, 30분의 흡광값은 분주 직후와 비슷하였다. 10% 처리구에서는 분주 직후 흡광값이 0.049였고 10분까지는 변화가 없었으나 15분 경과 시 0.043으로 감소하였고, 이후 변화를 보이지 않았다. 25% 처리구에서는 분주 직후 흡광값이 0.0815였으나 시간이 경과함에 따라 순차적으로 감소하였다. 반면에 50% 처리구에서는 분주 직후 0.121이었으나 10분 후 0.1225로 증가한 다음 20분과 30분에는 0.1195와 0.1175로 감소하였다(Fig. 1A). 에탄올과 아세톤 5% 처리구의 흡광값은 분주 직후 0.1865이었고 30분에는 0.185로 큰 변화가 없었다. 10% 처리구에서는 분주 직후와 10분, 20분의 흡광값이 0.155로 동일하였고 30분에는 0.158로 소폭 증가하였다. 25%와 50% 처리구에서는 10% 처리구와 비슷한 경향을 나타내었다(Fig. 1B). 메탄올과 아세톤 5% 처리구에서는 분주 직후부터 10분까지 흡광값이 0.128로 유지되었으나 20분에는 0.131, 30분에는 0.134로 소폭 증가하였다(Fig. 1C). 이상의 결과에서 흡광값은 용매의 종류와 함량에 따라 차이가 있었는데, 3차 증류수와 아세톤 처리구에서는 아세톤 함량이 높아짐에 따라 흡광값이 증가하였고, 에탄올 처리구에서는 아세톤 함량이 높아질 때 흡광값이 감소하였다. 반면에 메탄올과 아세톤 처리구에서는 아세톤 농도변화에 따른 흡광값 변화가 미미하였다(Fig. 1). 결과적으로 메탄올은 다른 용매에 비해 아세톤의 농도변화와 보존 시간 경과에 따른 흡광값 변화가 가장 적었는데, 이는 아세톤에 의해 마이크로플레이트 표면이 변성되는 것을 메탄올이 가장 효과적으로 차단하고 있음을 나타낸다.

Table 1. Comparison of absorbance for total red color in acetone extract of pepper powder according to wavelength.

Sample	Absorbance depending on wavelength		
	405 nm	450 nm	460 nm
S1 ^z	0.180 ± 0.005 b	0.309 ± 0.002 a	0.309 ± 0.004 a ^y
S2	0.129 ± 0.002 b	0.184 ± 0.001 a	0.183 ± 0.003 a
S3	0.216 ± 0.001 b	0.372 ± 0.007 a	0.369 ± 0.003 a
S4	0.138 ± 0.005 b	0.211 ± 0.009 a	0.217 ± 0.012 a
S5	0.267 ± 0.004 b	0.477 ± 0.007 a	0.483 ± 0.005 a
S6	0.123 ± 0.002 b	0.215 ± 0.005 a	0.218 ± 0.003 a
S7	0.188 ± 0.002 b	0.320 ± 0.001 a	0.319 ± 0.003 a
S8	0.315 ± 0.003 b	0.593 ± 0.004 a	0.606 ± 0.006 a
S9	0.138 ± 0.001 b	0.201 ± 0.005 a	0.199 ± 0.001 a
S10	0.231 ± 0.002 b	0.396 ± 0.006 a	0.400 ± 0.002 a
S11	0.212 ± 0.002 b	0.391 ± 0.004 a	0.397 ± 0.003 a

^zTotal red color was extracted by ASTA-20.1 method as described in materials and methods. Aliquots from the same extract of each sample were used for absorbance at three wavelengths.

^yMean separation within rows by Duncan's multiple range test at 5% level.

그러나 모든 용매에서 분주후 10분이 경과할 경우 흡광값 변화가 관찰되었는데, 희석액에 존재하는 아세톤에 의해 마이크로플레이트 표면이 조금씩 변성되기 때문에 발생하는 것으로 판단된다.

마이크로플레이트를 측정 용기로 사용하기 위해 보다 적합한 조건을 찾고자 카로티노이드 추출액을 10배, 20배, 50 배로 희석하고, ASTA법과 Microplate법으로 흡광값을 조사 비교하여 최적 희석 농도를 조사하였다(Fig. 2). 추출액을 10배로 희석하였을 때 r값은 0.9966이었으며(Fig. 2A), 20배 희석액은 r = 0.9851(Fig. 2B), 50배 희석액은 r = 0.8797 이었다(Fig. 2C). 이상의 결과에서 마이크로플레이트의 표면을 손상시키지 않고 카로티노이드 함량을 정확하게 측정

하기 위한 붉은 고추의 카로티노이드 추출액(아세톤 추출액)의 희석 배율은 10배가 적당함을 확인하였다. 본 연구에서 개발한 Microplate법을 성공적으로 수행하기 위해서는

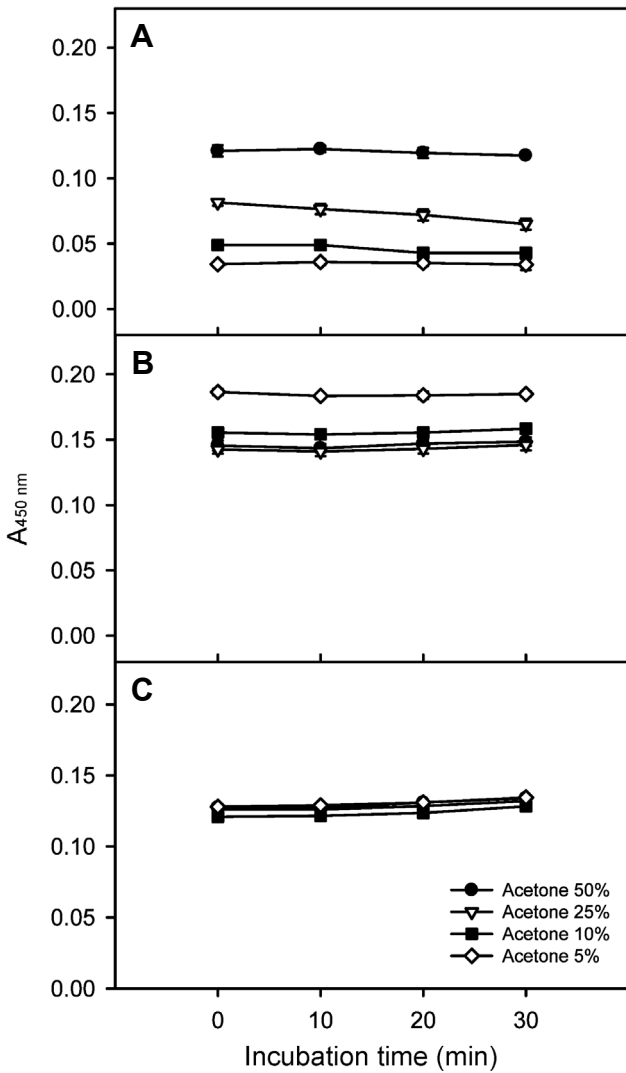


Fig. 1. Effect of dilution agents on surface degeneration of 96-wells polystyrene microplate by acetone. Acetone was diluted to each concentration with distilled water (A), ethanol (B), and methanol (C), respectively. Absorbance increase indicates surface conformation change of 96-wells polystyrene microplate by acetone. $A_{450 \text{ nm}}$ means absorbance at 450 nm.

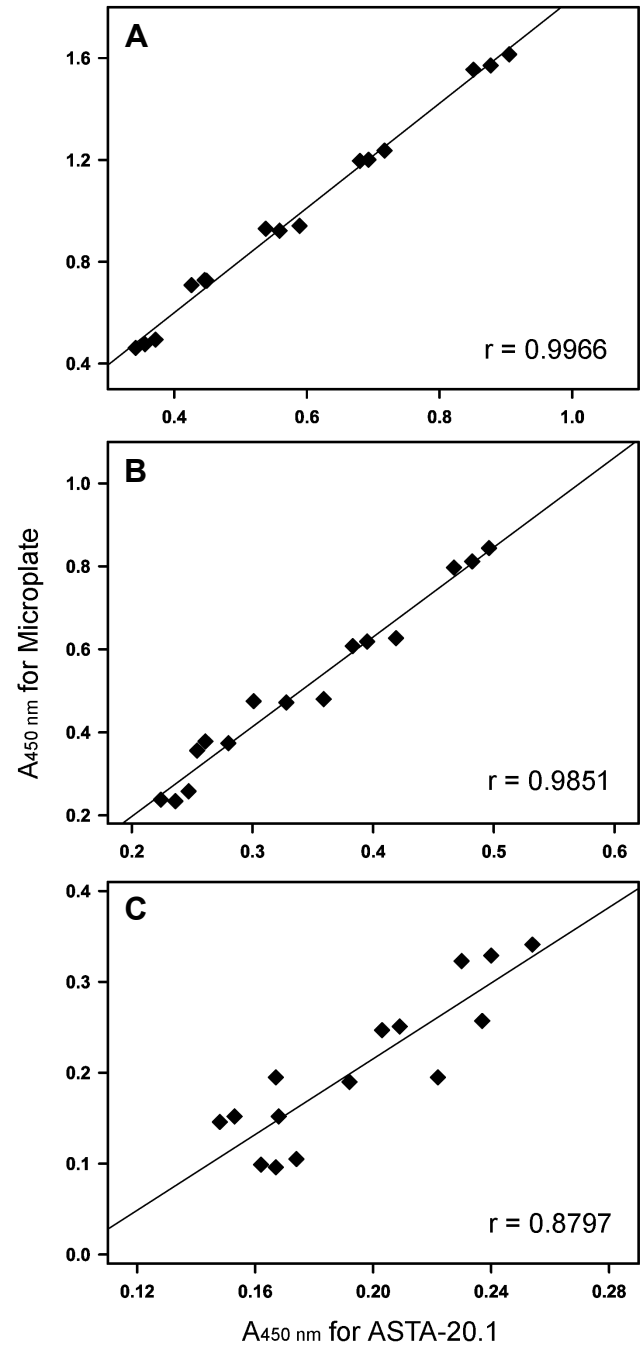


Fig. 2. Optimal dilution of acetone extract for measurement of total carotenoids using Microplate method. X and Y axis mean absorbances evaluated by Microplate and ASTA-20.1 methods, respectively. After screening total carotenoids in 200 fruit powders of 419 F_2 by the ASTA method at 460 nm, 15 samples were grouped into five classes and used in this study. Total carotenoids were extracted three times per each sample. The acetone extracts were diluted to 10 (A), 20 (B), and 50 (C) times with methanol for both methods. The average values were compared for the correlations. $A_{450 \text{ nm}}$ means absorbance at 450 nm.

아세톤 추출액을 메탄올로 10배 희석하고 마이크로플레이트에 희석액 200 μ L를 분주한 후 10분 이내에 결과를 판독해야만 보다 정확한 결과를 얻을 수 있을 것으로 판단된다.

고색소용 고추 품종을 육성할 때 고려해야 할 것 가운데 하나는 저비용으로 많은 시료를 신속하게 분석하는 것이다. ASTA 20.1법의 경우 아세톤 폐기물 발생량(시료당 100mL)이 많이 추출시간도 8시간으로 긴 편이다. 본 연구에서는 아세톤 사용량을 줄이고 효과적인 추출시간을 조사하고자 하였다. ASTA20.1법에 따른 A처리구와 아세톤 사용량 1/10로 줄인 B처리구의 카로티노이드 추출 효과를 비교한 결과, A와 B처리구 흡광값은 색소함량이 가장 낮은 시료에서는 0.33, 0.34, 가장 높은 시료에서는 0.84, 0.83으로 두 방법간의 차이는 없었다(Fig. 3A). 실험에 사용한 시료 가운데 색소가 가장 높은 시료의 ASTA 값은 136, 137이었다. 시중에서 유통되고 있는 고색소 품종의 ASTA 값이 90에서 120 정도인 것을 감안하면, 색소 함량이 다소 높다고 해도 아세톤 10mL로 충분한 양의 색소를 추출할 수 있을 것으로 판단된다. 한편, ASTA 값이 다른 8개 고춧가루를 이용해 추출에 적합한 시간을 조사한 결과, 1시간까지는 실험에 사용한 모든 시료에서 카로티노이드 추출량이 빠르게 증가하는 경향을 보였다. 반응 4시간 후에는 시료에 따라 0.04와 0.67로 소폭 감소하거나 0.6-4.17

까지 소폭 증가하였고, 8시간 이후에는 0.01-8.86까지 증가하였다(Fig. 3B). 결과적으로 추출시간이 길면 카로티노이드 추출량이 증가한다고 판단되지만, 반응 2시간 후 측정된 시료의 흡광값은 1시간에 비해 0.04-3.57까지 오히려 감소하였다. 이는 실제 측정에 사용되는 시료의 양이 20 μ L로 미량이고 아세톤과 메탄올이 휘발성이기 때문에 발생한 오차인 것으로 판명되었다. 따라서 카로티노이드 추출에 적합한 반응 시간은 4시간 이상이면 충분할 것으로 판단되며, Microplate법을 이용할 때 제조한 혼합액(아세톤과 메탄올)이 휘발하지 않도록 각별히 주의하고 혼합액 제조 후 가능한 한 빨리 색소를 측정해야 할 것으로 판단된다.

이상의 결과를 기초로 고추 육성과정에서 Microplate법만으로도 고색소 개체를 효과적으로 선발할 수 있는지를 확인하였다. Microplate법(Fig. 4A)과 ASTA20.1법(Fig. 4B)로 고색소 육성 재료인 F₁ 조합 30개체의 색소를 분석한 결과, 2개 시료(2번과 26번 시료)를 제외한 나머지 시료의 흡광값 순위는 동일하였다(Fig. 4). Microplate법에서는 2번과 26번 시료의 흡광값이 각각 0.2944와 0.4494로 1번과 27번 시료의 흡광값(0.3063, 0.4645)보다 낮게 나왔으나, ASTA20.1법에서는 2번과 26번 시료의 흡광값 각각 0.5054와 0.7101로 1번과 27번 시료의 흡광값(0.4615, 0.6963) 보다 높게 나

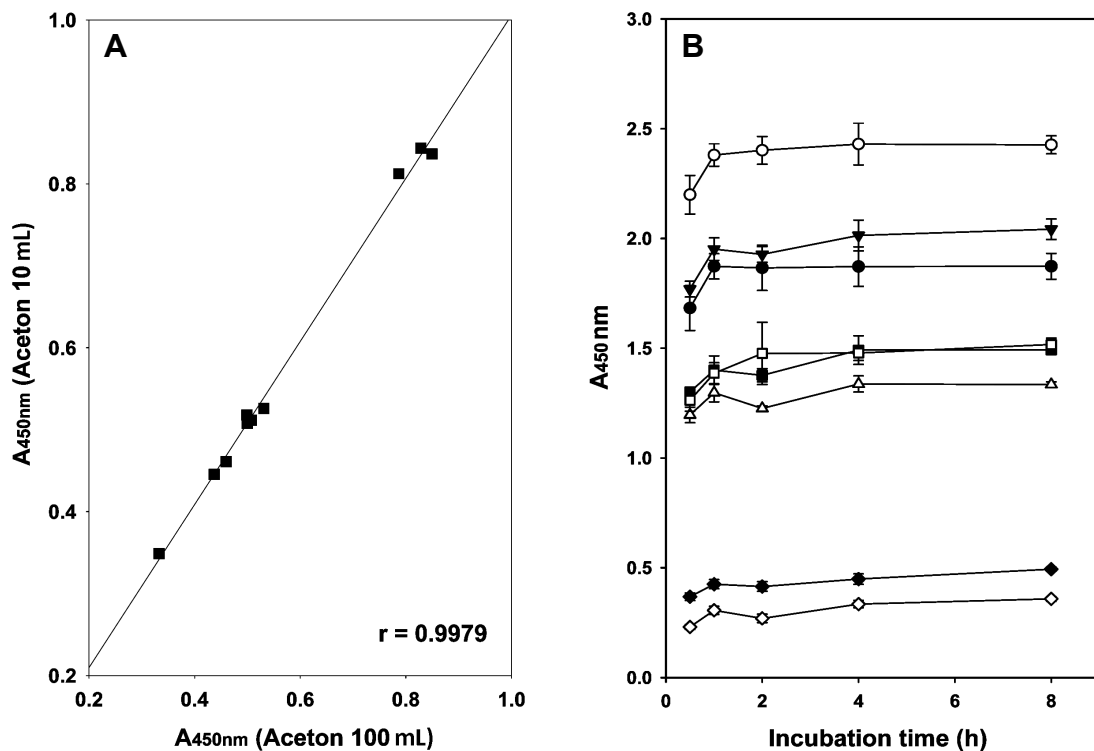


Fig. 3. Effect of acetone volume and extraction time for total carotenoids. In Fig. 3A, total carotenoids were extracted from 0.1 g dried red pepper powder in 10 mL (X axis) and 100 mL (Y axis) acetone by shaking for 4 h. In Fig. 3B, 10 mL acetone was used for the total carotenoid extract of eight samples that were primarily classified into 4 groups according to ASTA values. Aliquot (200 μ L) of the same sample at each time was used for the total carotenoid analysis. Each test was repeated three times and average values were used for analysis. $A_{450 \text{ nm}}$ means absorbance at 450 nm.

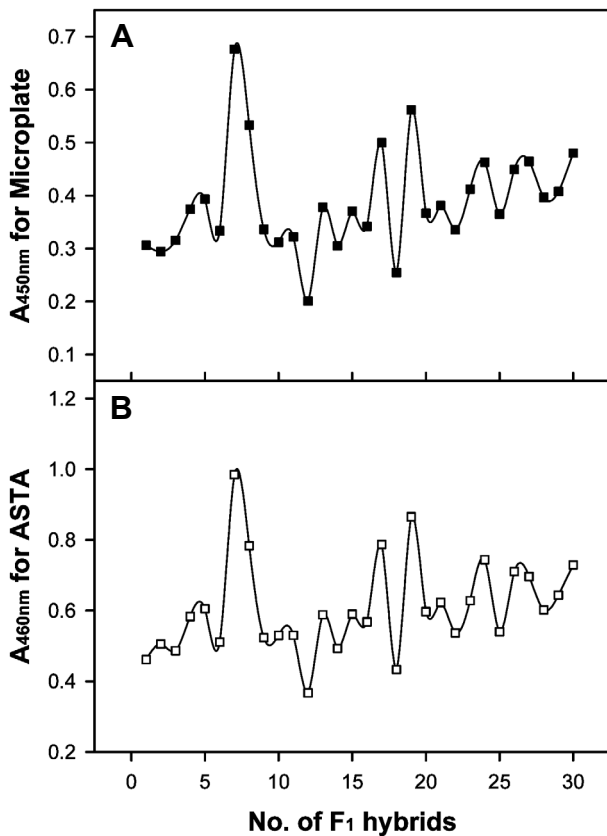


Fig. 4. Application of Microplate and ASTA20.1 methods on evaluating total carotenoids in F₁ pepper hybrids. Total carotenoids were extracted from 0.1 g dried red pepper powder in 10 mL (A) and 100 mL (B) acetone by shaking for 4hrs. A_{450 nm} and A_{460 nm} mean absorbance at 450 nm and 460 nm, respectively.

왔다. 이는 ASTA20.1법에 비해 Microplate법에서는 적은 양의 시료를 다루기 때문에 발생된 오차인 것으로 판단되었다. Microplate법은 ASTA20.1법에 비해 측정 시 오차가 다소 발생할 수는 있으나, 카로티노이드 측정시간과 아세톤 폐기물 발생량을 현저히 줄일 수 있다는 측면에서 실제 고추 육성현장에 매우 유용하게 이용될 수 있을 것으로 기대한다.

초 록

본 연구에서는 폴리스틸렌 재질의 96-well 마이크로플레이트와 ELISA 판독기를 이용하여 고추의 카로티노이드 함량을 간편하게 분석할 수 있는 방법을 개발하고자 하였다. 분광광도계를 이용하지 않고 450nm 필터가 장착된 ELISA 판독기로도 카로티노이드 분석이 가능하였으나, 카로티노이드 추출 시 사용하는 아세톤으로 인해 마이크로플레이트의 표면이 불투명하게 변색되었다. 그러나 아세톤 색소추출물을 메탄올로 10배 희석한 용액을 사용할 경우, 플레이트 표면과

용액 내 카로티노이드 성분의 변화 없이 카로티노이드 측정이 가능하였고, ASTA-20.1법으로 측정된 결과와도 높은 상관관계를 보였다. 한편, 카로티노이드 추출 조건으로는 고춧가루 0.1g을 아세톤 10mL에 첨가하고 실온에서 4시간 동안 교반하는 것이 적합하였다. 본 실험의 ELISA 판독기를 이용한 색소분석법(Microplate법으로 명명)은 대량의 시료를 처리할 수 있을 뿐만 아니라 아세톤 폐액의 발생량을 ASTA-20.1법의 1/10 수준으로 줄일 수 있어 실제 고추 육종에서 고색소 계통을 선발할 때 매우 유용할 것으로 판단된다.

추가 주요어 : 육종, 품질, 선발

인용문헌

- American Spice Trade Association (ASTA). 1986. Official analytical method. 2nd ed. ASTA, Englewood Cliffs, NJ. USA. p. 68.
- Chung, J.H. 1994. Studies on the Accumulation pattern of quality-related compounds in *Capsicum* Species and its genetic control. Ph.D. Diss., Seoul National University, Seoul, Korea.
- Commission Internationale de L'Eclairage (CIE). 1986. Colorimetry-publication CIE 15.2. 2nd ed. CIE, Vienna, Austria.
- Cooper, D.A. 2004. Carotenoids in health and disease: Recent scientific evaluations, research recommendations and the consumer. *J. Nutr.* 134:221S-224S.
- Curl, A.L. 1962. The carotenoids of red bell peppers. *Agric. Food Chem.* 10:504-509.
- Giuffrida, D., P. Dugo, G. Dugo, G. Torre, and L. Mondello. 2011. Analysis of native carotenoid composition of sweet bell peppers by serially coupled C30 columns. *Nat. Prod. Commun.* 6:1817-1820.
- Gregory, G.K., T.-S. Chrn, and T. Philip. 1987. Quantitative analysis of carotenoids and carotenoid esters in fruits by HPLC: Red bell peppers. *J. Sci.* 52:1071-1073.
- Han, J.H., S.C. Hong, J.D. Lee, and J.B. Yoon. 2011. Patent-10-2011-0113163.
- Jung, J.K., S.J. Lee, S.W. Park, W.G. Kim, and S.I. Moon. 2008. Characteristics of taste on red pepper powder products in Daegu and Gyeongbuk area. Rept. GyeongSang Bukdo Govt. Public Inst. Health Environ. 20:39-58.
- Lee, H.D., M.H. Kim, and C.H. Lee. 1992. Relationships between the taste components and sensory preference of Korean red peppers. *Korean J. Food Sci. Technol.* 24:266-271.
- Mozaffarieh, M., S. Sacu, and A. Wedrich. 2003. The role of the carotenoids, lutein and zeaxanthin, in protecting against age-related macular degeneration: A review based on controversial evidence. *Nutr. J.* 2:20-27.
- Kweon, O.Y., Y.K. Kim, J.B. Yoon, H.G. Park, and W.M. Yoon. 2006. Inheritance of carotenoids content in red pepper (*Capsicum annum* L.) fruit. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 24:123-127.
- Snodderly, D.M. 1995. Evidence for protection against age-related macular degeneration by carotenoids and antioxidant vitamins. *Am. J. Clin. Nutr.* 62(Suppl.):1448s-1460s.