

## Analysis of Physiological Activity and Cytotoxicity of Residue Extracts after Pepper Harvest

Tae-Won Kim<sup>3,4</sup>, Byeong-Gyun Jeon<sup>2,3</sup> and Sung-Ho Lee<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup>Division of Life Science, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea

<sup>2</sup>Department of Biology Education, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea

<sup>3</sup>Institute of Agriculture and Life Science, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea

<sup>4</sup>Gyeongsangnam-do Agricultural Research & Extension Services, Medicinal Resources Research Institute, Gyeongnam 50005, Korea

Received September 14, 2020 /Revised November 4, 2020 /Accepted November 18, 2020

The purpose of this study was to investigate the value of residue discarded after harvesting a species of pepper (*Capsicum annuum* L.). This study analyzed the physiological activity and cytotoxicity of a fermented extract and a hot water extract gathered from the residues of the Cheongyang pepper and the Nokkwang pepper. The total nitrogen, phosphoric acid, potassium, calcium, and magnesium contents of the fermented extract of the Nokkwang pepper were approximately twice as high as those of the Cheongyang pepper, while the hot water extracts had similar levels of these components across both peppers. Among the microelements, only boric acid, iron, and silicon components were detected, whereas zinc, manganese, molybdenum, and copper components were not detected in either extract. The total polyphenol and flavonoid contents of the fermented extracts were more than two times higher than those of the hot water extracts for both peppers. The DPPH radical scavenging ability (indicating antioxidant activity) of the fermented extract was higher than that of the hot water extract, while the ABTS radical scavenging ability (indicating antioxidant activity) of the hot water extract was higher than that of the fermented extract. A cytotoxicity test was conducted on the extracts using an MTT assay. Both extracts exhibited weak cytotoxicity at all concentrations for both peppers. These results suggest that the extract of residue discarded after harvesting these peppers could be suitable for functional feed or agricultural materials.

**Key words :** Cytotoxicity, extract, pepper residues, physiological activity

### 서 론

고추(*Capsicum annuum* L.)는 가지과에 속하는 1년생 식물로서 남아메리카가 원산지이며, 약 400년 전 임진왜란 이후 일본을 통해 국내로 도입되어 현재 한국 음식에서 매운맛을 내는 향신료로 우리 식생활에 중요한 양념 채소로서 자리 잡고 있다[5, 25, 29]. 고추에는 capsaicinoid, ascorbic acid, carotenoid, polyphenol, flavonoid 등의 다양한 생리활성물질이 존재하며, 이러한 물질들은 항산화 및 항암 활성 등의 생리활성 효과가 상당히 높은 것으로 알려져 있다[8, 16, 18, 27]. 우리나라의 고추 재배면적은 2017년 28,337 ha이고 연간 생산량이 약 42만 톤으로 매년 약 1조 원의 총생산액으로 농가의 수익 작물로 불린다[9, 11, 22]. 이에 따라 고추 수확 후 발생하는 농업 잔재물인 고춧대는 약 90만 톤으로 추정된다[32]. 이와

같은 농업 잔재물인 고춧대는 특히, 농촌 지역인 경우 적절한 관리가 이루어지지 않은 채 노천소각으로 처리되고 있다. 이러한 노천소각은 불완전연소가 수반되며, 다양한 입자상 및 가스상 대기오염물질을 배출하고 있다[17, 28]. 하지만 농업현장에서 발생하는 고춧대 등과 같은 농업 잔재물들은 비료 성분은 낮고 유기물함량이 높아 친환경적 생물성 폐자원으로서 고부가가치를 지니고 있으며, 활용 면에서도 잠재력을 가지고 있다. 따라서 고추 수확 후 발생하는 농업 잔재물인 고춧대를 이용한 자원화 기술개발이 필요한 실정이다[32]. 최근에는 양파, 토마토, 고구마 등의 농산물 수확 후 발생하는 잔재물을 추출물을 이용하여 고품질 안전농산물을 생산하는 기술에 관한 연구들이 활발히 진행되고 있다[4, 19, 20, 25]. 따라서 본 연구에서는 고추 수확 후 발생하는 농업 잔재물을 발효추출과 열수추출의 방법을 이용하여 추출액을 제조하고, 제조된 추출액의 생리활성과 세포독성 분석을 검증하고자 하였다.

### 재료 및 방법

#### 식물액 추출과 농축

고추(*Capsicum annuum* L.)는 우리나라에서 풋고추와 홍고추 생산을 위해 가장 많이 재배되는 홍농종묘(주)의 '녹광(Nok-

\*Corresponding author

Tel : +82-55-772-1346, Fax : +82-55-772-1349

E-mail : leesh@gnu.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

kwang)'고추와 중앙종묘에서 열대지방 재래종과 국내 재래종을 교잡하여 나온 우리나라 대표적인 매운 고추인 '청양(Cheongyang)' 고추를 수확한 후 벼려진 잔재물인 줄기, 잎 등을 5 cm 정도의 길이로 절단하였다. Effective microorganisms (EM) 발효추출물을 절단한 식물 잔재물 8 kg과 EM 미생물군(Ever miracle, Korea) 1 l, 흑설탕 3 kg, 물 40 l를 혼합하여 30일 동안 실온에서 숙성 후 발효추출 하였다. 열수추출물은 절단한 잔재물 4 kg을 물 20 l에 담아 100°C에서 4시간 동안 농축 추출기(DM-3000, Daehanmedian, Korea)를 이용하여 열수추출하였다. 추출물을 여과지(No. 2, Toyo Roshi Kaisha, Ltd., Japan)를 이용하여 3회 거른 후, 감압농축기(N-1200A, EYELA, Japan)를 사용하여 60°C에서 감압·농축하여 수분을 완전히 제거하였다. 수분을 제거하고 남은 고형분은 건조함양법을 이용하여 수율을 측정한 후, 추출물을 dimethyl sulfoxide (DMSO)로 녹여 필요한 농도로 희석하여 실험에 사용하였다.

#### 추출물의 화학성분 분석

발효추출물과 열수추출물의 성분 분석은 농촌진흥청 비료의 품질검사방법 및 시료 채취기준에 따라 분석하였다. 산도는 pH meter (Seveneray S20, Mettler, Switzerland)로 측정하였고, 질소는 황산으로 분해 후 Kjeldahl 종류법(K-355, Buchi, Germany), 인산은 비색법(UV-1800, Shimadzu, Japan)으로 분석하였으며, 나머지 칼륨, 칼슘 및 미량원소들은 유도 결합플라스마 분석기(Inductively coupled plasma spectrometer, Blue, Germany)로 각각 측정하였다. 유기물함량은 Tyurin법으로 측정하였다.

#### 총 폴리페놀 함량 측정

추출물의 총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis 방법[2]을 일부 변형하여 측정하였다. 96 well plate에 각 추출액 10 µl에 2% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 용액 180 µl을 첨가하여 3분간 정치시킨 후 다시 1 N folin-ciocalteu's reagent를 10 µl 첨가하여 충분히 혼합시켜 실온 암실에서 다시 40분간 정치한 후 Multimicroplate reader-SpectraMax M5 (Molecular Devices, USA)를 이용하여 750 nm 파장으로 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 gallic acid를 사용하였으며, 추출물의 총 폴리페놀 함량은 시료 g당 mg의 gallic acid로 나타내었다.

#### 총 플라보노이드 함량 측정

추출물의 총 플라보노이드의 함량은 Jia 등[15]의 방법을 변형하여 측정하였다. 96 well plate에 각 추출물 25 µl, 중류수 100 µl와 5% NaNO<sub>2</sub> 용액 7.5 µl을 첨가한 후 5분간 정치하였다. 10% AlCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O 용액 15 µl를 첨가하고 다시 5분간 정치한 후 1 M NaOH 100 µl를 첨가하여 실온 암실에서 10분간 반응시킨 다음 Multimicroplate reader-SpectraMax M5 (Molecular

Devices, USA)를 사용하여 510 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 (+)-catechin hydrate를 사용하였으며, 추출물의 총 플라보노이드 함량은 시료 100 g당 mg (+)-catechin hydrate로 나타내었다.

#### DPPH를 이용한 radical 소거 활성 측정

1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH) radical 소거 활성 능은 Brand-Williams 등[3]의 방법을 변형하여 측정하였다. 96 well plate에 각 추출물 50 µl와 0.15 mM DPPH 용액 200 µl를 첨가하여 실온 암실에서 30분 동안 반응시킨 후 Multimicroplate reader-SpectraMax M5 (Molecular Devices, USA)를 사용하여 517 nm 파장에서 흡광도의 변화를 측정하였다. 표준물질은 ascorbic acid를 사용하였으며, 대조구는 methanol과 DPPH 용액의 흡광도와 비교하였다. 각 시료별 IC<sub>50</sub>(Inhibitory Concentration 50%)은 DPPH의 농도가 50% 감소하는데 필요한 시료의 농도로 하였다.

#### ABTS를 이용한 radical 소거 활성 측정

2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) radical 소거 작용을 이용한 항산화력 측정은 ABTS cation de-colorization assay 방법을 따랐다[30]. 7 mm의 ABTS diammonium salt와 2.4 mm potassium persulfate 용액을 혼합한 후 암실에서 4시간 동안 정치하여 ABTS radical을 형성시킨 후 이 용액을 734 nm에서 흡광도 값이 0.7(±0.02)이 되도록 몰흡광계수( $\epsilon = 3.6 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ )를 이용하여 에탄올로 희석하였다. 희석된 ABTS 용액 225 µl와 각 추출액 25 µl를 첨가한 후, Multimicroplate reader-SpectraMax M5 (Molecular Devices, USA)를 사용하여 734 nm에서 흡광도 값을 측정하였다. 대조구로는 BHA (butylated hydroxyanisole)와 ascorbic acid를 사용하였고, 흡광도가 50% 감소할 때 나타나는 시료의 radical 소거능(IC<sub>50</sub>)으로 표시하였다.

#### MTT assay를 이용한 추출물의 세포독성 조사

추출물의 세포독성 유무를 확인하기 위해 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) assay를 수행하였다. 세포주 macrophage RAW 264.7은 세포주 은행(KCLB No40071, Korea Cell Line Bank, Seoul, Korea)으로부터 분양받아 Dublecco's Modified Eagle Medium (Gibco, MD, USA)에 penicillin-streptomycin 100 unit/ml와 10% fetal bovine serum (Gibco, MD, USA)을 첨가하여 사용하였다. 세포주는 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator (Thermo Scientific, IL, USA)에서 2일 간격으로 계대 배양하였다[21]. 세포 생존율 측정을 위해 RAW 264.7 세포주를 96 well plate에 2×10<sup>5</sup> cells/ml이 되도록 100 µl씩 분주하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 24시간 배양한 후, 배지를 제거한 뒤 각 추출물을 농도별(0~5,000 µg/ml)로 처리한 후 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서

24시간 배양하였다. 이 plate에 다시 CellTiter 96<sup>®</sup> aqueous non-radioactive cell proliferation assay reagent (Promega, WI, USA)를 첨가한 후, 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 4시간 반응시켜 Multimicroplate reader-SpectraMax M5 (Molecular Devices, USA)를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하여 세포 생존율을 측정하였다. 처리군의 MTT 값은 대조군을 100%로 기준으로 하여 생존력 감소로 표시하였다.

### 통계분석

산출된 값의 평균과 표준편차는 엑셀(Microsoft office 2010, Microsoft, USA)프로그램을 이용하여 산출하였고, 처리간의 차이 유무를 확인하기 위해 SPSS 통계프로그램(Statistical Package for the Social Science, ver. 18.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 one-way ANOVA (Analysis of Variation)로 분석 후 Duncan's multiple range test로 유의적 차이를 검증하였다.

### 결과 및 고찰

#### 추출물의 화학성분 분석

고추 수확 후 잔재물(상품성이 떨어진 열매, 잎, 줄기)로부터 추출한 발효추출물과 열수추출물의 화학성분을 분석하여 Table 1에 나타내었다. 발효추출물의 pH는 청양고추와 녹광고추에서 각각 3.42와 3.50으로 약간의 강산성을 나타내었다. EM 용액을 이용한 발효추출물의 pH는 3.5 이하라고 보고되었고[10], 양파와 고구마 수확 후 잔재물로부터 추출한 EM 발효추출물의 pH도 각각 3.05와 3.13이라고 보고되었다[19, 20]. 이들 결과와 마찬가지로 본 연구의 청양고추와 녹광고추의 수확 후 잔재물의 발효추출물도 유사한 pH 결과를 나타내었다. 청양고추와 녹광고추 열수추출물의 pH는 발효추출물보다 두 배 이상이 높은 각각 7.51과 7.55로 중성을 나타내었다. 이는 같은 방법으로 열수추출한 양파와 고구마의 열수추출물들의 결과와도 유사하게 나타내었다[19, 20]. 청양고추와 녹광고추의 발효추출물의 유기물함량은 각각 1.16%와 1.21%로서 열수추출물의 함량인 0.17%와 0.18%보다 약 7배 정도 많이 함유하고 있는데, 이는 EM 미생물을 이용한 발효과정에서 미생물 자체 유기물과 고추 잔재물의 유기물이 섞여 상호 간의 상승

효과가 나타났을 것으로 사료된다. 이와 같은 결과는 양파 수확 후 잔재물을 이용한 발효추출물과 열수추출물과의 유기물 함량을 비교했을 때도 유사한 결과를 나타내었다[19]. 다량원소 중 질소, 인산, 칼륨, 칼슘, 마그네슘 성분의 전체 함량은 발효추출물에서 녹광고추가 0.31%로 청양고추의 0.156% 보다 2배 정도 높은 함량을 보였고, 열수추출물에서 청양고추가 0.23%, 녹광고추가 0.22%로 유사한 함량을 보였다. 7가지 종류의 미량원소 분석 중에서 봉산, 철, 규소성분만 검출되고 아연, 망간, 몰리브덴, 구리성분은 두 추출물 모두에서 검출되지 않았다. 봉산은 녹광고추와 청양고추 열수추출물에서 각각 24 mg/kg과 17 mg/kg으로 발효추출물의 4 mg/kg과 3 mg/kg 보다 약 6배 높은 함량을 나타내었다. 철은 녹광고추와 청양고추 열수추출물에서 각각 22 mg/kg과 31 mg/kg으로 발효추출물의 17 mg/kg과 22 mg/kg보다 1.3배 높은 함량을 나타내었다. 규소는 녹광고추와 청양고추 열수추출물에서 각각 8 mg/kg과 14 mg/kg으로 발효추출물의 14 mg/kg과 7 mg/kg과 유사한 함량을 나타내었다(Table 1). An 등[1]은 8종의 식물 부산물들을 사용하여 농가에서 자가제조한 발효액들의 다량원소와 미량원소의 성분들을 분석하여 평균값을 보고하였다. 질소, 인산, 칼륨의 함량은 본 발효추출물보다 높게 나왔고 칼슘과 마그네슘의 함량은 본 발효추출물과 유사하였다. 철의 함량은 본 발효추출물에서 높게 나왔으나 본 발효추출물에서 검출되지 않았던 마그네슘, 아연, 구리는 아주 극소량이 검출되었다고 보고하였다. 따라서 식물체 부산물의 유용성분을 추출하기 위해 사용하는 방법과 조건 그리고 부재료 등의 차이로 인해 추출물 성분함량의 차이가 조금씩 나타날 수 있다고 사료된다.

#### 총 폴리페놀 함량

항산화 효과와 밀접한 관계가 있는 총 폴리페놀 함량을 gallic acid를 표준용액으로 조사하여 Table 2에 나타내었다. 청양고추의 발효추출물은 29.3±3.2 mg/g로서 열수추출물 11.1±0.7 mg/g보다 18.2 mg/g 높은 함량을 나타내었으며, 녹광고추의 발효추출물은 27.0±3.4 mg/g로서 열수추출물 15.0±1.2 mg/g 보다 12.0 mg/g 높은 함량을 나타내었다. 전반적으로 총 폴리페놀 함량은 발효추출물이 열수추출물보다 2배 이상 높게 나타내었다. Lee 등[26]은 유기재배와 관행재배를 통해 수확한

Table 1. Chemical composition of fermented and hot water extracts using residues after pepper harvest

Extract	Variety	pH	OM <sup>1)</sup>	T-N	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	CaO	MgO	Zn	Mn	B	Fe	Mo	Si	Cu
				% (w/v)						mg/kg(w/v)					
Fermentation	Cheongyang	3.42	1.16	0.07	0.01	0.04	0.017	0.019	ND <sup>2)</sup>	ND	3	22	ND	7	ND
	Nokkwang	3.50	1.21	0.11	0.01	0.11	0.019	0.061	ND	ND	4	17	ND	14	ND
Hot water	Cheongyang	7.51	0.17	0.03	0.03	0.11	0.010	0.053	ND <sup>1)</sup>	ND	17	31	ND	14	ND
	Nokkwang	7.55	0.18	0.02	0.01	0.11	0.013	0.067	ND	ND	24	22	ND	8	ND

<sup>1)</sup>OM: organic matter. <sup>2)</sup>ND: not detected.

Table 2. Polyphenol and flavonoid contents in fermented and hot water extracts using residues after pepper harvest

Extract	Variety	Total polyphenol (gallic acid mg/g)	Total flavonoid (catechin mg/g)
Fermentation	Cheongyang	29.3±3.2 <sup>c</sup>	6.7±2.1 <sup>b</sup>
	Nokkwang	27.0±3.4 <sup>c</sup>	6.9±2.7 <sup>b</sup>
Hot water	Cheongyang	11.1±0.7 <sup>a</sup>	3.5±0.9 <sup>a</sup>
	Nokkwang	15.0±1.2 <sup>b</sup>	3.5±0.5 <sup>a</sup>

Results are shown as mean ± SD (n=3). Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

청양고추의 메탄올 추출물로부터 총 폐놀 함량을 조사했는데, 유기재배에서는 3.99 mg/g과 관행재배에서는 3.50 mg/g이라고 보고했는데, 이는 본 실험의 청양고추의 발효추출물과 열수추출물의 함량보다 낮게 나왔다. Huang 등[12]은 신품종 고추 24종으로부터 메탄올 추출액을 통해 총 폐놀 함량을 조사했는데, 7.93-14.26 mg GAE/g dried weight 수준이었으며, 평균값은 11.04 mg GAE/g dried weight로 나타내었다고 보고했다. 이들의 결과도 본 실험의 발효추출물의 함량보다 낮게 나왔다. Jeong 등[14]은 한국산 파프리카 3품종을 대상으로 메탄올 추출액을 통해 총 폐놀 함량을 조사했는데, president 품종에서 26.32 mg%, fiesta 품종이 24.69 mg%, special 품종이 18.75 mg%라고 보고했는데, 이는 본 실험의 청양고추나 녹광고추의 발효추출물보다 낮은 함량이었으나 열수추출물의 함량보다는 높게 나왔다. 이는 품종과 추출부위의 차이, 실험절차, 추출방법들이 다르기 때문에 결과의 차이가 있다고 사료된다.

### 총 플라보노이드 화합물

고추 수확 후 발생하는 잔재물로부터 추출한 추출물의 총 플라보노이드 함량을 catechin을 표준물질로 사용하여 분석한 결과를 Table 2에 나타내었다. 청양고추의 발효추출물은 6.7±2.1 mg/g로서 열수추출물 3.5±0.9 mg/g보다 3.2 mg/g 높은 함량을 나타내었으며, 녹광고추의 발효추출물은 6.9±2.7 mg/g로서 열수추출물 3.5±0.5 mg/g보다 3.4 mg/g 높은 함량을 나타내었다. 청양고추와 녹광고추의 총 플라보노이드 함량은 총 폴리페놀 함량과 마찬가지로 발효추출물이 열수추출물보다 약 2배 정도 높은 함량을 나타내었다. Kim 등[23]은 국내에서 소비되는 풋고추 4품종을 대상으로 총 플라보노이드 함량을 catechin을 표준물질로 사용하여 조사했는데, 평균함량이 2.009 mgCE/g였으며, 그중에서 청양고추가 3.323 mgCE/g으로 가장 함량이 높았다고 보고했다. 이는 본 실험의 청양고추나 녹광고추 발효추출물보다 2배 정도 낮은 함량을 나타내었고, 열수추출물의 함량과는 유사한 함량을 나타내었다. 신품종 고추 24종으로부터 quercetin을 표준물질로 사용하여 총 플라보노이드 함량을 Huang 등[12]이 보고했는데, 그 결과 4.24-10.07 mgQE/g dried weight의 값으로 품종 간 함량 차이가 났다고 했다. 평균값의 함량은 6.79±1.64 mgQE/g dried weight로 본 실험의 청양고추나 녹광고추의 발효추출물의 함

량과 유사하게 나타내었다. 이는 고추품종과 추출부위, 추출방법 및 사용한 표준물질 종류에 따라 함량의 차이가 났을 것으로 사료된다.

### DPPH를 이용한 radical 소거 활성

짧은 시간 내 간단하게 항산화 활성을 측정할 수 있어 널리 사용되고 있는 DPPH를 이용한 radical 소거 활성 능력을 고추 수확 후 잔재물 추출물을 대상으로 측정한 결과를 Table 3에 나타내었다. DPPH radical을 50% 감소하는데 필요한 추출물의 농도를 IC<sub>50</sub> (Inhibitory concentration 50%) 값으로 하여 살펴보면 녹광고추의 발효추출물은 55.6 µg/ml로 가장 높은 항산화력을 나타내었고, 청양고추의 열수추출물은 1,243 µg/ml로 가장 낮은 항산화력을 나타내었다. 총 폐놀과 플라보노이드 함량과 마찬가지로 발효추출물이 열수추출물보다 항산화력이 높은 것으로 나타났다. 이는 항산화 활성을 나타내는 폐놀성 화합물이 열수추출물보다 발효추출물에서 많이 추출되기 때문이라 판단된다. Kim 등[23]은 국내 풋고추의 항산화력을 DPPH 라디칼 소거능으로 조사한 결과에서 청양고추가 약 70%의 소거 활성을 나타내었다고 보고했다. Yi 등[33]은 국내 고추품종 간 DPPH법을 통한 항산화 활성을 비교 분석하여 보고했는데 녹광고추의 풋고추 기준으로 신품종 고추를 제외한 모든 품종에서 녹광고추보다 높은 항산화 활성을 보였다고 했다. Huang 등[12]은 고추 24종을 대상으로 DPPH 자유 라디칼 소거 활성을 조사했는데 전체 1-5 mg/ml의 농도 범위로

Table 3. Antioxidant activities of fermented and hot water extracts using residues after pepper harvest

Extract	Variety	Antioxidant activity (IC <sub>50</sub> )	
		DPPH (µg/ml)	ABTS (µg/ml)
Fermentation	Cheongyang	359.9±9.8 <sup>b</sup>	1428.0±13.1 <sup>c</sup>
	Nokkwang	55.6±8.6 <sup>a</sup>	382.7±12.3 <sup>b</sup>
Hot water	Cheongyang	1243.0±11.4 <sup>d</sup>	286.3±13.8 <sup>a</sup>
	Nokkwang	1183.0±5.5 <sup>c</sup>	305.6±14.1 <sup>a</sup>

DPPH: 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl, ABTS: 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6sulfonic acid), IC<sub>50</sub>: Inhibitory concentration 50.

Results are shown as mean ± SD (n=3). Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

나왔다고 보고했는데, 이는 본 실험의 청양고추와 녹광고추의 발효추출물의 라디칼 소거 활성보다 낮게 나왔다. 이처럼 DPPH를 이용한 radical 소거 활성 측정은 천연 항산화제의 free radical 소거 활성을 평가하는데, 일반적으로 사용되고 있다. 고추 수확 후 버려지는 고춧대 잔재물 추출물에서도 높은 항산화 능력을 보임으로 버려지는 고춧대의 활용가치가 높다고 판단된다.

#### ABTS를 이용한 radical 소거 활성

고추 수확 후 잔재물 추출물의 ABTS를 이용한 radical 소거 활성을 측정한 결과를 Table 3에 나타내었다. 각 추출물의 IC<sub>50</sub> (Inhibitory concentration 50%) 값을 살펴보면 청양고추의 열수추출물이 286.3 μg/ml으로 가장 높은 항산화력을 나타내었고, 청양고추의 발효추출물은 1,428 μg/ml으로 가장 낮은 항산화력을 나타내었다. 녹광고추의 발효추출물과 열수추출물에서는 각각 382.7 μg/ml와 305.6 μg/ml으로 나타내었다. DPPH를 이용한 항산화력 측정의 결과와는 다르게 열수추출물이 발효추출물보다 항산화력이 높게 나왔다. 양파 수확 후 잔재물 추출물의 ABTS를 이용한 radical 소거 활성 능력도 양파의 열수추출물이 발효추출물보다 높다고 보고했다[19]. ABTS를 이용한 고추의 항산화 능력에 대해 여러 연구자가 보고했는데, breeding line이나 품종별로 차이가 났다고 했다 [12, 16, 33, 35]. 이와 같이 ABTS radical 소거 활성은 항산화제 유무를 확인하는 방법으로 DPPH assay와 함께 일반적으로 사용되고 있다.

#### MTT assay를 이용한 추출물의 세포독성

고추 수확 후 버려지는 고춧대로부터 추출한 추출물의 세포독성 유무를 확인하기 위해 MTT assay를 수행하였다. MTT assay는 살아있는 세포에서 미토콘드리아의 NAD(P)H 의존적인 oxidoreductase가 노란색의 MTT 용액을 환원시켜 보라색의 formazan을 형성하는 것을 흡광도로 측정하는 방법이다 [31]. RAW 264.7 세포주를 이용하여 추출물의 단계별 농도 (15~5,000 μg/ml)에 따른 세포생존율을 측정한 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 녹광고추와 청양고추 발효추출물의 낮은 농도인 15 μg/ml에서 세포생존율은 각각 108.3%와 104.0%를 나타내었고, 열수추출물에서는 125.4%와 77.9%를 나타내었다. 그리고 발효추출물의 높은 농도인 5,000 μg/ml에서 녹광고추와 청양고추의 세포생존율은 각각 75.6%와 103.7%를 나타내었고, 열수추출물에서는 118.8%와 111.2%를 나타내어 두 추출물의 모든 농도에서 세포독성이 약한 것으로 확인되었다. 전체적으로는 발효추출물이 열수추출물 보다 세포생존율이 높았다. 고추열매 추출물에 대한 세포독성이나 세포사멸 또는 항암 활성측정을 MTT assay 방법을 통해 많이 보고 되었지만 [16, 24, 34, 35], 고춧잎 추출물에 대한 보고는 Jeon 등[13]이 고춧잎 추출물의 암세포 증식억제 활성을 MTT assay를 통해 조사했는데 세 가지 추출물 모두에서 뛰어난 암세포 증식억제 활성을 보였다고 보고했다. Choi 등[6]은 3가지 품종의 고춧잎에서 증류수, 80% 에탄올, 메탄올로 추출한 추출물을 정상 신장세포를 대상으로 MTT assay를 통한 세포독성을 조사했는데 모두 54.4±32~112.6±9.0%의 세포 생존율을 보였다고 보고했다. Chung [7]은 고춧잎 추출물을 유방암 세포와 간암 세포

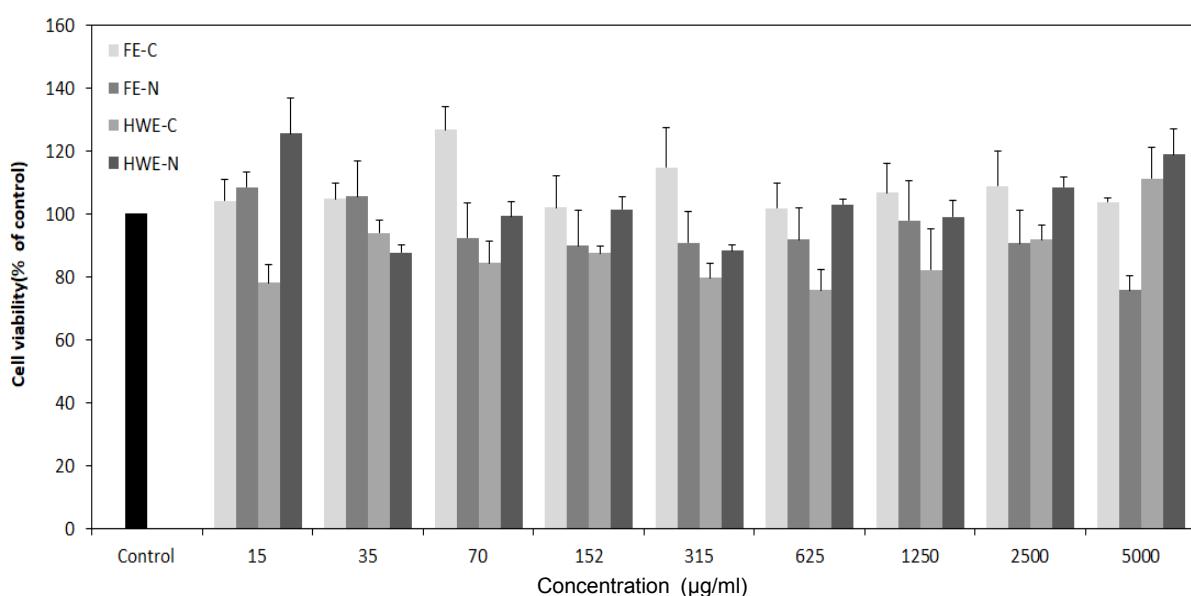


Fig. 1. Cytotoxic effects of fermented and hot water extracts using residues after hot pepper harvest on cell line RAW 264.7. Cell viability was measured by the MTT assay. FE-C: fermented extract-cheongyang. FE-N: fermented extract-nokkwang. HWE-C: hot water extract-cheongyang. HWE-N: hot water extract-nokkwang. Results are shown as mean ± SD. Mean separation within columns by Duncan's multiple range test at 5% level.

주에 첨가했을 때 강한 성장 억제 작용을 보였는데 10 µg/ml에서 35.3%, 25 µg/ml에서 42.9%, 75 µg/ml에서 94.8%의 암세포 억제 효과를 보였다고 보고했다. 따라서 본 연구 결과 고추 수확 후 버려지는 잔재물이 천연 기능성 물질추출을 위한 소재로 이용되거나 또한 그 추출물이 각종 바이오 소재로 활용되어도 큰 문제가 없으리라 판단된다.

### The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

### References

- An, N. H., Jo, J. R., Kim, Y. K., Lee, Y., Jee, H. J., Lee, S. M., Park, K. L. and Lee, B. M. 2012. The survey of actual using conditions of farm-made liquid fertilizers for cultivation environment-friendly agricultural products. *Kor. J. Organic Agri.* **20**, 345-356.
- Appel, H. M., Govenor, H. L., D'Ascenzo, M., Siska, E. and Schultz, J. C. 2001. Limitation of folin assays of folia phenolics in ecological studies. *J. Chem. Ecol.* **27**, 761-778.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. and Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Sci. Technol.* **28**, 25-30.
- Cho, Y. S. 2015. Effect of application amount of liquid fertilizer produced from tomato residue on the fruit growth and composition of organic tomatoes. MS dissertation, Chungnam National University, Daejeon, Korea.
- Cho, Y. S., Cho, M. C. and Suh, H. D. 2000. Current status and projects of national hot pepper industry in Korea. *J. Kor. Capsicum Res. Coop.* **6**, 1-27.
- Choi, S. R., Kim, M. J., Ahn, M. S., Song, E. J., Seo, S. Y., Choi, M. K., Kim, Y. S., Choi, D. G. and Song, Y. J. 2014. Cytotoxicity of extracts from Korean pepper (*Capsicum annuum* L.) by extraction solvents and plant parts. *Kor. J. Med. Crop Sci.* **22**, 369-377.
- Chung, Y. Z. 2003. Induction of cancer cell apoptosis by the extract of *Capsicum annuum* L. var. *angulosum* Mill sorted according to the parts in hepatoma cells and MCF-7 cells. *J. Pharm. Soc. Kor.* **47**, 57-68.
- Davis, B. H., Mathews, S. and Kirk, J. T. O. 1970. The nature and biosynthesis of the carotenoids of different colour varieties of *Capsicum annuum* L. *Phytochem.* **9**, 797-805.
- Han, J. H., Lee, Y. S. and Song, K. H. 2019. An analysis on consumers' perceptions about consumption of premium chili powder. *Kor. J. Agricultural Economics* **60**, 67-83.
- Higa, T. 2001. Effective microorganisms in the context of Kyusei Nature Farming: a technology for the future. In: Senanayake YDA, Sangakkara UR(Eds.), Sixth International conference on Kyusei Nature Farming. pp. 40-43. Pretoria, South Africa.
- Hong, S., Han S. and Jang, H. 2020. Analysis on the inhibitory effects of frozen pepper imports from China by tariff-rate quota, a trade policy tool using a structural equation model. *Kor. J. of Agricultural Sci.* **47**, 337-347.
- Huang, Y., So, Y. J., Hwang, J. R., Yoo, K. M., Lee, K. W., Lee, Y. J. and Hwang, I. K. 2014. Comparative studies on phytochemicals and bioactive activities in 24 new varieties of red pepper. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **46**, 395-403.
- Jeon, G., Han, J., Choi, Y., Lee, S. M., Kim, H. T. and Lee, J. 2008. Antioxidant and antiproliferative activity of pepper (*Capsicum annuum* L.) leaves. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **37**, 1079-1083.
- Jeong, C. H., Ko, W. H., Cho, J. R., Ahn, C. G. and Shim, K. H. 2006. Chemical components of Korean paprika according to cultivars. *Kor. J. Food Preserv.* **13**, 43-49.
- Jia, Z., Tang, M. and Wu, J. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem.* **64**, 555-559.
- Jung, M., Hwang, Y., Kim, H. Y., Cho, M. C., Hwang, I. G., Yoo, M. Y., Jeong, H. S. and Lee, J. 2011. Evaluation of biological activity in pepper (*Capsicum annuum* L.) breeding lines. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **40**, 642-648.
- Kim, D. Y., Choi, M. A., Han, Y. H. and Park, S. K. 2016. A study on estimation of air pollutants emission from agricultural waste burning. *J. Kor. Soc. Atmos. Environ.* **32**, 167-175.
- Kim, S., Kim, K. S. and Park, J. B. 2006. Changes of various chemical components by the difference of the degree of ripening and harvesting factors in two single-harvested peppers (*Capsicum annuum* L.). *Kor. J. Food Sci. Technol.* **38**, 615-620.
- Kim, T. W., Lee, G. H., Jeon, B. G. and Lee, S. H. 2018. Analysis of physiological activity and cytotoxicity of fermented and hot water extracts using residues after onion harvest. *J. Life Sci.* **28**, 1163-1169.
- Kim, T. W., Lee, G. H., Jeon, B. G. and Lee, S. H. 2019. Analysis of physiological activity and cytotoxicity of fermented and hot water extracts using residues after sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) harvest. *J. Agriculture Life Sci.* **53**, 93-103.
- Kim, C. H., Lee, M. A., Kim, T. W., Jang, J. Y. and Kim, H. J. 2012. Anti-inflammatory effect of *Allium hookeri* root methanol extract in LPS-induced RAW264.7 cells. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **41**, 1645-1648.
- Kim, S., Min, J. and Kim, H. T. 2019. Mycological characteristics and field fitness of *Colletotrichum acutatum* resistant to pyraclostrobin. *Kor. J. Pestic. Sci.* **23**, 231-239.
- Kim, N., Seo, D., Cheon, W., Choi, Y., Lee, J. and Kim, Y. 2020. Bioactive nutritional compounds and antioxidant activity of green peppers consumed in Korea. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **49**, 141-148.
- Lee, Y. R. 2017. Anti-oxidative and anti-proliferative effect of 70% ethanol extracts from green pepper (*Capsicum annuum* L. cv. DangZo). *Kor. J. Food Nutr.* **30**, 1127-1131.
- Lee, S. E., Ham, H. M., Kim, Y. H., Sung, J. H., Hwang, I. G., Yu, S. M., Jeong, H. S. and Lee, J. S. 2013. The content of capsaicinoids in peppers by cultivation region in Korea. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **42**, 129-133.

26. Lee, M. W., Park, J. E., Jang, E. J., Son, H. J., Park, H. C., Hong, C. O., Lee, S. B., Shim, C. K., Ko, B. G. and Kim, K. K. 2017. Comparative analysis of functional components of organic and conventional cultivated fruit vegetables commercially distributed in Korea. *J. Life Sci.* **27**, 1176-1184.
27. Materska, M., Piacente, S., Stochmal, A., Pizza, C., Olezek, W. and Peruka, I. 2003. Isolation and structure elucidation of flavonoid and phenolic acid glycosides from pericarp of hot pepper fruit *Capsicum annuum* L. *Phytochemistry* **63**, 893-898.
28. Park, S. K., Hong, Y. S., Kim, D., Kim, D. Y. and Jang, Y. K. 2015. Emission of air pollutants from agricultural crop residues burning. *J. KOSAE* **31**, 63-71.
29. Park, J. B., Lee, S. M. and Kim, S. 2000. Capsaicinoids control of red pepper powder by particle size. *J. Kor. Capsicum Res. Coop.* **6**, 51-62.
30. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.* **26**, 1231-1237.
31. Wang, B. S., Chen, J. H., Liang, Y. C. and Duh, P. D. 2005. Effects of welsh onion on oxidation of low-density lipoprotein and nitric oxide production in macrophage cell line RAW 264.7. *Food Chem.* **91**, 147-155.
32. Won, K. Y. and Oh, K. K. 2009. Optimization the xylose fractionation conditions of peeper stem with dilute sulfuric acid. *KSBB J.* **24**, 361-366.
33. Yi, T. G., Park, Y., Choi, I. Y. and Park, N. I. 2019. Comparison of metabolite levels and antioxidant activity among pepper cultivars. *Kor. J. Breed. Sci.* **51**, 326-340.
34. Yoon, J., Jun, J. J., Lim, S. C., Lee, K. H., Kim, H. T., Jeong, H. S. and Lee, J. 2010. Changes in selected components and antioxidant and antiproliferative activity of peppers depending on cultivation. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **39**, 721-736.
35. Yoon, H. J., Lee, S. and Hwang, I. K. 2012. Effects of green pepper (*Capsicum annuum* var.) on antioxidant activity and induction of apoptosis in human breast cancer cell lines. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **44**, 750-758.

### 초록 : 고추 수확 후 잔재물 추출물의 생리활성과 세포독성 분석

김태원<sup>3,4</sup> · 전병균<sup>2,3</sup> · 이성호<sup>1,3\*</sup>

(<sup>1</sup>경상대학교 생명과학부, <sup>2</sup>경상대학교 생물교육학과, <sup>3</sup>경상대학교 농업생명과학연구원, <sup>4</sup>경상남도 농업기술원 약용자원연구소)

본 연구에서는 고추(*Capsicum annuum* L.) 수확 후 버려지는 잔재물의 활용가치를 위해 이들로부터 추출한 발효추출물과 열수추출물의 생리활성과 세포독성을 분석하였다. 녹광고추 발효추출물에 함유된 질소, 인산, 칼륨, 칼슘, 마그네슘 성분의 총 함량은 청양고추 발효추출물 보다 2배 정도 높았고, 열수추출물에서는 유사한 함량을 보였다. 미량원소 중에는 봉산, 철, 규소 성분만 검출되고, 아연, 망간, 몰리브덴, 구리 성분은 두 추출물 모두에서 검출되지 않았다. 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량은 청양고추와 녹광고추 모두에서 발효추출물이 열수추출물 보다 2배 이상 높게 나타내었다. DPPH radical 소거 능력은 발효추출물이 열수추출물 보다 항산화력이 높게 나타나었으나, ABTS radical 소거 능력은 열수추출물이 발효추출물 보다 항산화력이 높게 나왔다. MTT assay를 이용한 추출물의 세포독성 실험에서는 청양고추와 녹광고추 두 추출물의 모든 농도에서 세포독성이 미약한 것으로 확인되었다. 따라서 고추 수확 후 버려지는 잔재물이 천연 기능성 물질추출을 위한 소재로 이용되거나 또한 그 추출물이 각종 바이오 소재로 활용되어도 큰 문제가 없으리라 판단된다.