

Effects Against Obesity and Diabetes of Red Pepper (*Capsicum annuum* L.) Fermented with Lactic Acid Bacteria

Jun-Hyeong Lee^{1,2}, Byung-Hyuk Kim¹, Yeo-Cho Yoon^{1,2}, Jung-Gyu Kim^{1,2}, Ye-Eun Park¹, Hye-Suk Park¹, Hak-Soo Hwang³, In-Sook Kwun⁴, Gi-Seok Kwon^{2*} and Jung-Bok Lee^{1*}

¹Institute for Development of Bioindustrial Materials, BHNbio Co., LTD., Chungbuk 27850, Korea

²Department of Medicinal Plant Resources, Andong National University, Gyeongbuk 36729, Korea

³Kyochon F&B Co., LTD., Gyeonggi-do 18150, Korea

⁴Department of Food Science and Nutrition, Andong National University, Andong, Gyeongbuk 36729, Korea

Received October 26, 2018 / Revised February 27, 2019 / Accepted March 4, 2019

The red pepper (*Capsicum annuum* L.) is one of the most important vegetables in traditional Korean food, containing vitamins A, C, and E, polyphenol, and flavonoids. In addition, red peppers have high anti-oxidant ability and are known to be effective in preventing obesity, diabetes, hypertension, digestive disorders, stress, and aging. In this study, we investigated the effects against obesity and diabetes of both fermented and non-fermented red pepper. C57BL/6N mice with induced obesity from an eight-week 45% high fat diet (HFD) were then fed either an HFD or diets containing 2.5% non-fermented red pepper marc (NRM), 1.25% fermented red pepper marc (FRM), or 2.5% FRM for a further eight weeks. An oral glucose tolerance test was performed seven weeks after dietary intake, and body weight, liver, epididymal fat weight, serum insulin level, and HOMA-IR were measured and a lipid content test performed at eight weeks. The results show that the 2.5% FRM diet reduced body and tissue weight, lipid content, serum insulin levels, and HOMA-IR compared to the 2.5% NRM and HFD diets. These results suggest that fermented red pepper is effective against obesity and diabetes. We will use this information as the basic data for the development of health food materials using red pepper.

Key words : Diabetes, fermentation, lactic acid bacteria, obesity, red pepper

서 론

최근 우리나라의 식생활습관이 서구화 됨에 따라 과도한 지방 섭취로 인해 제 2형 당뇨병이 증가되고 있으며, 비만이나 고지혈증과 같은 성인병이 증가되고 있다[5, 13, 14, 17]. 70년대 한국에서 당뇨병 발병률은 1.5% 정도에서 최근에는 10% 비율로 크게 증가되었다[10]. 이에 따른 당뇨병 사망률은 OECD 국가 중 최고 수준이며, 우리나라의 인구 10만명당 32.3명으로 OECD 평균 22.8명보다 약 10명이 많은 수준으로 한국내 사망 원인 중 6위에 올라섰다[28]. 당뇨병은 췌장의 랑게르한스섬 β세포의 파괴로 인해 인슐린의 절대부족으로 야기되는 제 1형 당뇨병과 말초조직에서 발생하는 인슐린 저항성이 의해 야기

되는 제 2형 당뇨병으로 나눌 수 있다[3, 27]. 제 2형 당뇨병의 주요 원인은 비만으로 에너지 소비량에 비해 영양소가 과다하게 섭취하여 에너지 불균형이 생기고 체내에 지방조직이 과다하게 축적된 상태를 의미하며, 유전적 또는 환경적 요인에 의해 발생한다. 비만으로 인한 조직 내에 각종 지방의 축적은 염증을 유발하고, 이로 인해 인슐린저항성을 야기한다고 보고되어 있다[2, 6, 8, 12, 15, 20, 30]. 제 2형 당뇨병의 치료는 비만과 염증을 줄임으로써 인슐린저항성 개선을 통한 치료제가 사용되고 있다[31]. 그러나, 현재 시판되고 있는 당뇨병치료제는 인슐린저항성을 낮추는 효과는 뛰어나지만, 호르몬이나 복부통증, 신장 기능이상, 심장질환 등의 부작용을 유발한다고 보고되었다[9, 21, 22]. 따라서 이와 같은 부작용을 최소화하고 인슐린저항성을 개선 시킬 수 있는 천연 의약품 개발이 매우 시급하다.

고추(*Capsicum annuum* L.)는 가지과에 속하는 식물로 남아메리카 열대 지역이 원산지이며, 한국 및 전세계에서 재배되고 있으며, 여러해살이나무이지만 우리나라에서는 겨울을 나지 못하므로 한해살이풀처럼 재배되고 있다[7, 18, 24]. 고추에는 capsaicin, carotenoid, vitamin A, B1, B2, C 등의 강력한 항산화물질이 다량 함유되어 있어 비만, 항염증 및 성인병에 효과가 있다고 알려져 있다[4, 7].

*Corresponding authors

Tel : +82-54-822-8972, Fax : +82-54-822-8973

E-mail : bio91@bhnbio.com (Jung-Bok Lee)

Tel : +82-54-820-5909, Fax : +82-54-820-6252

E-mail : gskwon@andong.ac.kr (Gi-Seok Kwon)

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.

유산균(Lactic acid bacteria)은 인간이 이용할 수 있는 가장 유익한 미생물의 한 종류로서 발효 과정 중에 당류를 에너지원으로 사용하여 젖산(lactic acid)을 50% 이상 생성하는 균을 말한다[1, 11]. 유산균의 효능에는 면역증강, 간경화 개선 작용, 장내 유해 세균 제거, 알레르기, 아토피, 콜레스테롤 저하, 항암효과, 변비예방 등 다양한 효능이 있다고 알려져 있으며 최근 연구에서는 유산균이 에너지 항상성에 관여하는 PPAR γ 유전자를 조절하여 비만을 억제하고, 또한 비만에 의해 유도된 혈당 증가를 억제하여 혈당을 조절한다고 보고되어 있다 [16, 19, 23, 33].

따라서, 본 연구에서는 홍고추를 유산균으로 발효 후 mice에서 항비만 및 항당뇨 효과를 검토하였으며, 유산균 발효 홍고추 대사산물의 건강기능식품 소재로 활용가능성을 확인하였다.

재료 및 방법

실험 재료

본 실험에 사용한 홍고추(*Capsicum annuum* L.)는 밀양농협에서 재배된 것을 구입하여 본 연구에 사용하였다.

사용 균주

홍고추의 발효를 위한 유산균은 약 20여가지 젖갈에서 분리한 유산균과 홍고추를 혼합하여 발효하였으며, 발효 유무와 오염도를 확인한 후 가장 우수한 1개 균주를 선별하였다. 본 연구에 사용한 유산균은 16S rRNA gene분석을 통해 동정하

여, *Lactobacillus plantarum*과 99% 유사도를 갖는 것으로 확인하여 *L. plantarum* BHN-LAB 33으로 명명하였다. 전배양 조건은 MRS 배지에 37°C, 48시간 동안 배양 후 회수하여 홍고추 발효에 이용하였다.

유산균 발효 고추 시험물질 제조

홍고추박과 홍고추는 고압멸균기를 이용하여 멸균하였으며, 멸균된 홍고추박 50 g과 홍고추 50 g을 섞은 후 *L. plantarum* BHN-LAB 33을 50 ml 접종하여, 발효 전 유산균 5.56X10⁶ cfu/ml를 확인하였으며, 37°C에서 72시간 발효 후 주정 70%로 추출하여, 추출물을 동결 건조하여 실험에 사용하였다.

고지방식이 유발 비만형 제2형 당뇨병 동물 모델의 제작

실험동물은 C57BL/6N종 수컷 5주령 mice (Orientbio, Korea)를 7일간 순화시킨 뒤 실험에 사용하였다. 실험동물은 온도 23±3°C, 상대 습도 55±15% 및 12시간 명암주기로 조절되는 환경에서 사육하였으며, 케이지당 1마리씩 사육하였다. 물과 식이는 자유롭게 섭취하도록 하였고, 고지방식이사료(HFD, 45% AIN-76 diet 45% fat calorie) (DooYeol Biotech, Seoul, Korea)를 8주간 섭취시켜 비만형 제2형 당뇨병을 유발했으며, 정상군에는 표준식이(ND, AIN-76 diet 10% fat calorie) (DooYeol Biotech, Seoul, Korea)를 섭취하였다(Table 1). 군분리는 고지방식이(HFD)를 섭취한 군을 표준식이(ND)에 비교하여 체중은 30% 이상, 혈당은 공복혈당이 126 mg/dL 이상의 mouse만을 선별하였으며, 각 군의 평균 체중 및 혈당 값이 균등하게 분리하였다.

Table 1. Composition of experimental diets

	ND ¹⁾	HFD	2.5% NRM	1.25% FRM	2.5% FRM	1% PG	1% PM
Choline bitartrate	10	10	7	7	7	7	7
Methionine	15	15	10.5	10.5	10.5	10.5	10.5
Cholesterol	-	25	17.5	17.5	17.5	17.5	17.5
Vitamin	50	50	35	35	35	35	35
Mineral	175	175	122.5	122.5	122.5	122.5	122.5
Casein	1000	1000	700	700	700	700	700
Cellulose	250	250	175	175	175	175	175
Corn oil	250	250	175	175	175	175	175
Lard	0	1000	700	700	700	700	700
Corn starch	1750	725	420	463.75	420	472.5	472.5
Sucrose	1500	1500	1050	1050	1050	1050	1050
<i>C. annuum</i> L.			87.5	43.75			
Fermented <i>C. annuum</i> L.					87.5		
Garcinia cambogia extract						35	
Mullberry root extract							35
Total (g)	5,000	5,000	3,500	3,500	3,500	3,500	3,500

¹⁾ND: normal diet group, HFD: high fat diet group, 2.5% NRM: high fat diet group with 2.5% Red pepper (*Capsicum annuum* L.) powder, 2.5% FRM: high fat diet group with 2.5% Fermented Red pepper (*Capsicum annuum* L.) powder, 5% FRM: high fat diet group with 5% Fermented Red pepper (*Capsicum annuum* L.) powder, PG: high fat diet group with 1% Garcinia cambogia (*Garcinia cambogia*) extracts, PM: high fat diet group with 1% Mulberry (*Morus alba* L.) Root Bark Extracts.

실험군 배정

실험군은 C57BL/6N mouse 각 군당 8마리씩 사육하였으며, 식이사료는 정상군(ND), 대조군(HFD), 실험군인 발효하지 않은 홍고추 2.5% 첨가한 사료군(2.5% NRM), 발효한 홍고추 1.25% 첨가한 사료군(1.25% FRM), 발효한 홍고추 2.5% 첨가한 사료군(2.5% FRM), 양성대조군인 1% 가르시니아 캄보지아 추출물을 첨가한 사료군(PG)와 1% 상백피 에탄올 추출물을 첨가한 사료군(PM)으로 나누어 연구를 수행하였다. 또한, 홍고추 투여군과 양성대조물질 투여군은 High fat diet (HFD, 45% AIN-76 diet 45% fat calorie)에 시험물질을 용량별로 섞어 8주간 섭취하도록 하였다. 홍고추가 첨가된 사료의 최고 농도는 14일 반복예비독성시험을 수행하여 최대내성용량(MTD, Maximum Tolerated Dose)을 구하여 독성이 나타나지 않는 농도를 최고 농도로 설정하였다. 모든 동물 실험 과정은 안동대학교 동물실험윤리 위원회의 승인을 받았다(No. 2018-3-0501-01-01).

체중, 식이 섭취량, 식이섭취효율 측정

체중은 실험시작일에 최초로 측정된 다음 매주 1회 측정하였으며, 실험 종료일까지 8주에 걸쳐 측정하였다. 식이 섭취량은 매주 1회 측정하였다. 식이 섭취량은 이전 사료 공급량에서 잔량을 감하여 계산하였으며, 식이섭취효율은 실험 기간중의 체중증가량을 식이섭취량으로 나누어 계산하였다.

부고환 지방조직 및 간 무게 측정

부고환 지방조직(epididymal fat pad) 및 간 무게 측정은 실험 시작 8주째 mouse를 희생 시킨 후 부검하여 측정하였다.

경구당부하검사(oral glucose tolerance test, OGTT)

경구 당부하 검사는 실험 7주째 12시간 이상 절식시킨 후, 공복 시 혈당을 측정한 다음 glucose (2g/kg body weight)를 멸균주사용수에 녹여 경구 투여한 다음 30, 60, 90, 120, 150, 180분 후 mouse의 꼬리정맥에서 혈액을 채취하고 혈당측정기(g doctor, Allmedicus, Korea)를 이용하여 혈당을 측정하였다.

실험동물의 혈청제조

분석에 이용한 혈청(serum)은 실험 종료 전 12시간 동안 mouse를 절식시키고 체중과 공복 혈당을 측정한 다음, ethyl ether로 마취하여 심장에서 채혈한 후, 채혈된 혈액은 실온에서 1시간 방치하고 4,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 제조하였다.

인슐린 저항성 및 혈중 인슐린 농도 측정

인슐린 저항성은 HOMA-IR 계산법을 이용하여 산출하였다. 혈당 및 insulin은 실험 시작 8주째에 12시간 이상 절식시킨 후 공복 시에 측정하였고, 인슐린 농도는 Mouse Insulin

ELISA kit (SHIBAYAGI, Co., Gunma, Japan)를 사용하여 ELISA로 측정하였다. 인슐린 저항성의 지표로 사용되는 HOMA-IR (homeostasis model assessment)은 다음의 공식을 이용하여 계산하였다[29].

$$\text{HOMA-IR} = \text{공복 시 혈당 blood glucose (mg/dL)} \times \text{insulin } (\mu\text{IU/ml}) / 405$$

Total cholesterol, Glucose 함량 측정

혈청 중 glucose 및 total cholesterol 함량은 효소법에 따라 조제된 시약 kit (Asanpharm, Korea)를 이용하였으며, 제조회사에서 제공하는 protocol에 따라 측정하였다.

Triglyceride 함량 측정

혈청의 triglyceride 함량은 효소법에 따라 조제된 시약 kit (Asanpharm, Korea)를 이용하였으며, kit에서 제공하는 protocol에 따라 측정하였다.

통계 처리

모든 통계분석은 SPSS version 25을 이용하였으며, 모든 실험 결과는 평균(mean)±표준편차(SD)로 나타냈다. ND와 HFD는 independent t-test를 이용하여 검증하였고, HFD과 고지방 식이에 시험물질을 첨가한 군은 one-way ANOVA를 실시한 후, 사후 검증 방법으로 Duncan's multiple range test를 이용하여 유의성을 검증하였다. 모든 경우의 유의적 수준은 $p < 0.05$ 를 적용하였다.

결과 및 고찰

체중증가량(몸무게 변화)

실험식이 급여 8주 후, 일반식이 섭취 mice와 고지방식이 사료를 섭취한 mice에서 각 실험군의 최종 체중, 식이섭취량 및 식이섭취효율을 조사하였다(Table 2). 고지방식이를 섭취하여 비만 유도 시 ND에 비해 HFD가 유의적($p < 0.001$)으로 높은 약 30.1%의 체중 증가율을 보여 고지방식이로 비만이 유도되었음을 확인하였다. 실험 전 ND를 제외한 모든 mice의 평균 체중은 약 40g으로 실험군 사이에 유의한 차이가 없었다. 그러나, 실험식이 급여 8주 후 2.5% NRM, 1.25% FRM, 2.5% FRM은 HFD에 비해 각각 6.8%, 5.8%, 9.4% 평균 체중이 감소되어 유의적으로 낮아졌고($p < 0.05$), 그 중 2.5% FRM 가장 큰 감소를 보였다. 이에 비해, 양성대조군인 PG, PM은 각각 12.8%, 13.2% 체중이 감소되었다($p < 0.05$). 식이 섭취량은 HFD가 ND에 비해 유의하게 높았으며($p < 0.01$), HFD과 실험군의 식이 섭취량을 비교했을 때 2.5% FRM만이 유의한 감소를 보였다($p < 0.05$). 식이섭취효율은 HFD가 ND에 비해 유의하게 높았으며($p < 0.01$), HFD과 실험군의 식이 섭취량 비교 시 모든 실험군에서 HFD보다 유의하게 낮은 결과를 보였다($p < 0.05$). 선행연구

Table 2. Effect of fermented Red pepper (*Capsicum annuum* L.) powder on final body weight, food intake and food efficiency ratio

	Initial body weight (g)	Final body weight (g)	Food intake (g/8 weeks)	Food intake (g/day)	Food efficiency ratio (%) ⁵⁾
ND ¹⁾	31.29±2.47 ^{***2)3)}	33.13±2.51 ^{***}	177.01±6.33	3.16±0.11	1.04±0.75 ^{**}
HFD	40.86±2.46	47.43±1.43 ^{a4)}	171.11±11.00 ^a	3.06±0.20 ^a	3.43±1.35 ^a
2.5% NRM	41.75±2.67	44.02±2.37 ^b	160.25±4.50 ^a	2.86±0.08 ^{ab}	1.54±1.59 ^b
1.25% FRM	42.08±2.59	44.66±0.74 ^b	172.34±14.94 ^{ab}	3.08±0.33 ^a	1.62±0.55 ^b
2.5% FRM	41.15±2.59	42.96±2.24 ^{bc}	154.14±5.72 ^b	2.75±0.10 ^b	1.21±0.12 ^b
PG	42.23±2.74	41.34±1.62 ^c	173.03±13.95 ^a	3.09±0.25 ^a	0.60±1.62 ^b
PM	39.99±4.48	41.18±3.49 ^c	174.11±22.77 ^a	3.11±0.41 ^a	0.60±0.92 ^b

¹⁾ND: normal diet group, HFD: high fat diet group, 2.5% NRM: high fat diet group with 2.5% Red pepper (*Capsicum annuum* L.) powder, 2.5% FRM: high fat diet group with 2.5 % Fermented Red pepper (*Capsicum annuum* L.) powder, 5% FRM: high fat diet group with 5 % Fermented Red pepper (*Capsicum annuum* L.) powder, PG: high fat diet group with 1% Garcinia cambogia (*Garcinia cambogia*) extracts, PM: high fat diet group with 1% Mulberry (*Morus alba* L.) Root Bark Extracts.

²⁾All values are mean ± SD.

³⁾**Significantly different between the ND and the HFD by t-test ($p < 0.01$), ***Significantly different between the ND and the HFD by t-test ($p < 0.001$)

⁴⁾Values with different superscripts are significantly different among high fat diet groups by ANOVA with Duncan's multiple range test at $p < 0.05$.

⁵⁾FER (food efficiency ratio = body weight gain/food intake) × 100

는 rats를 이용하여 홍고추 분말 5%를 고지방식이 사료에 섞어 4주간 섭취한 실험에서도 체중 및 식이섭취효율이 HFD에 비교해서 유의적으로 낮아진다고 보고되었다[4]. 본 연구에서도 홍고추가 포함된 사료 섭취 시 체중감소와 식이섭취효율이 감소되는 것을 확인하였으며, 발효한 홍고추가 발효하지 않은 홍고추보다 체중감소 및 식이섭취효율이 조금 더 낮은 것을 확인하였다. 이에 본 연구를 통해 홍고추 및 발효홍고추가 체중감소에 효과가 있는 것으로 판단된다.

장기무게(장기무게변화)

실험 식이의 종류에 따른 간과 부고환 지방의 무게를 측정하였다(Fig. 1). 간, 부고환지방 무게 모두 HFD가 ND에 비해 유의하게 증가하였으며($p < 0.001$), 실험 식이의 경우 간의 무게는 2.5% NRM, 1.25% FRM, PG는 HFD과 유의한 차이가 없었

으나, 2.5% FRM과 PM은 HFD에 비하여 각각 24.7%, 28.1% 감소하며 유의하게 낮았다($p < 0.05$). 부고환지방의 무게는 2.5% NRM과 PM은 HFD에 비하여 유의한 차이가 없었으나 1.25% FRM, 2.5% FRM, PG는 HFD에 비하여 각각 29.6%, 29.4%, 27.4% 감소하며 유의하게 낮았다($p < 0.05$). Rats를 이용하여 유산균을 이용해 발효한 마분말을 고지방식이 사료에 섞어 8주간 섭취한 mice는 HFD에 비교해 간과 부고환지방 모두 감소하였지만, 부고환지방 경우 유의성 없는 것으로 보고되었다[26]. 그러나, 본 연구에서는 발효 홍고추 2.5% FRM에서 간과 부고환지방의 무게가 감소하였고, 발효 마분말보다 큰 유의성을 갖는 것을 확인하였다.

혈중 지질농도

본 연구에서 혈중 지질 농도를 분석하였다(Table 3). 총 콜

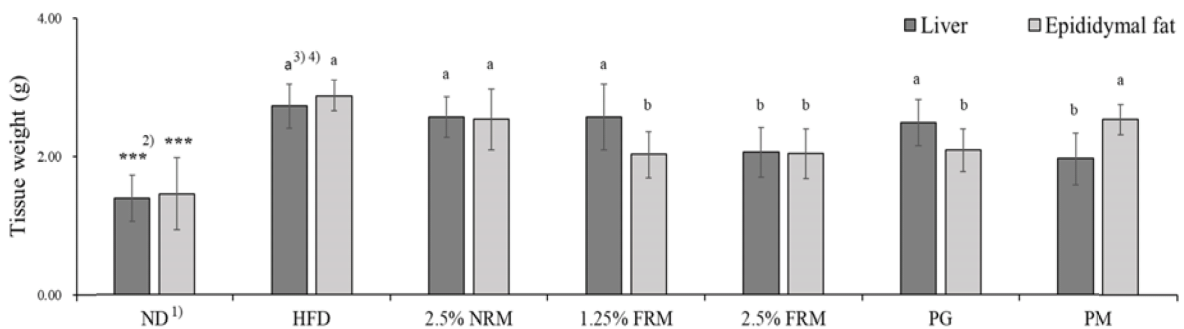


Fig. 1. Liver and epididymal fat weight of mice fed experimental diets supplemented with fermented Red pepper (*Capsicum annuum* L.) at 1% of diets for 8 weeks. ¹⁾Groups are the same as in Table 2. ²⁾All values are mean ± SD. ³⁾***Significantly different between the ND and the HFD by t-test ($p < 0.001$), ⁴⁾Values with different superscripts are significantly different among high fat diet groups by ANOVA with Duncan's multiple range test at $p < 0.05$.

Table 3. The lipid profiles of each experimental group after 8 weeks

	ND ¹⁾	HFD	2.5% NRM	1.25% FRM	2.5% FRM	PG	PM
Total cholesterol (mg/dL)	143.34±23.17 ^{2)3)**}	223.47±58.46 ^{a4)}	225.20±18.47 ^{ab}	221.99±29.13 ^{ab}	173.23±20.60 ^b	187.40±44.29 ^b	192.93±46.03 ^{ab}
Triglyceride (mg/dL)	65.16±13.92 ^{**}	97.88±10.97 ^a	64.10±10.92 ^b	47.52±19.33 ^{bc}	47.79±21.97 ^{bc}	43.69±12.51 ^c	44.46±13.67 ^c

¹⁾Groups are the same as in Table 2.

²⁾All values are mean ± SD.

^{3)**}Significantly different between the ND and the HFD by t-test ($p < 0.01$),

⁴⁾Values with different superscripts are significantly different among high fat diet groups by ANOVA with Duncan's multiple range test at $p < 0.05$.

레스테롤과 중성지방 모두 HFD가 ND에 비해 증가하는 것을 확인하였다($p < 0.05$, $p < 0.01$). 실험식이에 따른 혈청 중 총콜레스테롤 함량은 2.5% FRM에서만 HFD와 비교하였을 때 16.1% 감소하였다($p < 0.05$). 또한, 중성지방 경우 모든 군에서 HFD에 비하여 유의성이 확인되었다($p < 0.05$). 기존에 보고된, 홍고추 분말 5%를 고지방식이 사료에 섞어 4주간 섭취한 rats에서도 HFD에 비해 총콜레스테롤 함량은 유의성 있게 낮아졌으며, 중성지방은 비록 유의성을 보이지 못했지만 감소 되었다고 보고되었다[4]. 본 연구에서는 발효 홍고추 섭취를 통해 총콜레스테롤함량과 중성지방 함량이 기존연구보다 더욱 유의성 있게 감소하는 것을 확인하였고, 기존에 홍고추의 혈중 지질 감소효과보다 발효한 홍고추를 통해 더욱더 혈중 지질 농도를 낮출 수 있을 것으로 판단된다.

경구당 부하검사(AUC)

실험식이 급여 7주 후 경구당 부하검사를 수행하였다(Table 4). 2.5% NRM의 포도당 경구 부하 30, 90, 150, 180 분에서 HFD에 비해 혈당 농도가 낮아지는 것을 확인하였다($p < 0.05$). 또한, 2.5% FRM의 포도당 경구부하 30, 90, 120, 150, 180 분 후 HFD에 비해 혈당 농도가 낮은 것을 확인하였다($p < 0.05$). 그러나, 1.25% FRM에서는 모든 검사시간대에서 HFD와 비교

하였을 때 유의한 차이가 없었다. 또한, 양성대조군인 PG과 PM 경우 모두 포도당 경구부하 30, 60, 90분 후 HFD에 비해 혈당 농도가 낮은 것을 확인하였다($p < 0.05$). 이러한 혈당 농도 반응을 혈당 반응 면적(Area under curve, AUC)으로 산출하였다(Fig. 2). 혈당 반응 면적은 2.5% NRM, 1.25% FRM, 2.5% FRM에서 모두 HFD에 비해 각각 22.6%, 26.4%, 34.6% 각각 감소되었으며($p < 0.05$), 2.5% FRM이 시험 물질 중 가장 큰 감소를 보였다. 양성대조군인 PG, PM은 각각 46.7%, 65.1% 감소 되는 것을 확인하였다($p < 0.05$). 양의 연구에 의하면 제 2 당뇨병으로 모델로 제작한 rats를 이용하여 고추 분말 섭취 후 경구당 부하검사 시 혈당 반응 면적(AUC)이 유의성 있게 감소되었다[32]. 또한, 박 등은 고혈당을 유발시킨 rats의 혈당 반응 면적(AUC)은 발효하지않은 약초를 섭취한 rats보다 유산균 발효시킨 약초를 섭취 시킨 rats에서 유의성 있게 낮은 것을 보고 하였다[25]. 앞서 제시한 보고와 본 연구를 통해 홍고추의 혈당 감소 효과는 유산균 발효를 통해 보다 강하게 효과를 내는 것으로 판단된다. 혈중 지질과 유리 지방산 등이 간으로 유입이 증가되면, 인슐린과 인슐린 수용체에 결합이 저해된다. 이로 인해, 혈중 내 당이 간으로 유입이 감소되어 고혈당이 유발되어진다[17].

본 연구결과는 발효를 통해 혈중 및 간 지질 개선을 증가시

Table 4. Effect of fermented Red pepper (*Capsicum annuum* L.) powder on oral glucose tolerance test of each experimental group

	ND ¹⁾	HFD	2.5% NRM	1.25% FRM	2.5% FRM	PG	PM
0 min	101.80±24.03 ^{2)3)**}	152.43±9.02 ^{a4)}	144.13±25.94 ^a	161.57±24.81 ^a	130.00±28.16 ^a	129.50±46.19 ^a	136.63±30.88 ^a
30 min	160.00±16.36 ^{**}	309.14±27.77 ^a	257.50±56.50 ^{bc}	271.00±56.62 ^{ab}	238.88±33.14 ^{bc}	220.75±35.66 ^c	216.63±29.35 ^c
60 min	137.30±19.22 ^{**}	232.14±32.71 ^a	218.63±49.45 ^{ab}	230.71±44.95 ^a	197.00±19.65 ^{abc}	168.88±63.48 ^{bc}	186.38±32.33 ^c
90 min	105.20±12.12 ^{**}	213.29±36.34 ^a	179.75±35.72 ^{bc}	204.14±43.90 ^{ab}	171.00±19.00 ^c	164.63±8.57 ^c	171.63±23.48 ^c
120 min	98.90±21.55 ^{**}	159.14±16.99 ^a	153.25±18.13 ^a	170.57±31.36 ^a	140.50±12.89 ^b	156.88±9.14 ^a	168.88±22.34 ^a
150 min	98.60±22.54 ^{**}	148.71±15.18 ^a	130.88±6.79 ^c	151.00±22.37 ^{ab}	135.00±14.74 ^{bc}	149.38±9.97 ^{ab}	159.00±18.47 ^a
180 min	98.30±21.77 ^{**}	145.29±16.88 ^a	126.38±11.20 ^b	141.57±21.92 ^{ab}	123.75±20.80 ^b	140.38±7.09 ^{ab}	145.75±17.15 ^a

¹⁾Groups are the same as in Table 2.

²⁾All values are mean ± SD.

^{3)**}Significantly different between the ND and the HFD by t-test ($p < 0.01$),

⁴⁾Values with different superscripts are significantly different among high fat diet groups by ANOVA with Duncan's multiple range test at $p < 0.05$.

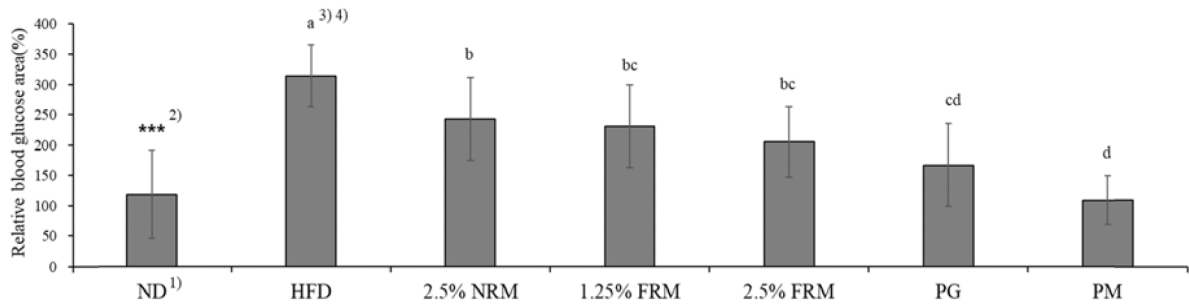


Fig. 2. AUC (Area under the curve) calculation after glucose treatment in mice fed experimental diets supplemented with fermented Red pepper (*Capsicum annuum* L.) at 1% of diets for 8 weeks. ¹⁾Groups are the same as in Table 2. ²⁾All values are mean±SD. ^{3)***}Significantly different between the ND and the HFD by t-test ($p<0.001$), ⁴⁾Values with different superscripts are significantly different among high fat diet groups by ANOVA with Duncan's multiple range test at $p<0.05$.

키며, 혈중 지질과 유리 지방산 등이 간으로 유입되는 것을 줄여 혈당이 감소되는 것이라 추론할 수 있다. 또한, 홍고추는 혈중 및 간 지질 개선효과를 가지는 것을 확인하였다. 그러나, 유산균 발효를 통해 발효하지 않은 홍고추의 혈중 및 간 지질 개선효과보다 더욱 증가시키는 것을 확인하였다. 따라서, 유산균 발효는 매우 유익한 기술임을 확인하였다.

혈중 글루코스 함량, 인슐린 및 HOMA-IR

인슐린은 혈중의 당을 떨어뜨리는 역할을 하는 호르몬이다. 인슐린은 근육으로 포도당 섭취 또는 간으로 포도당 섭취 및 포도당 생성을 억제하여 혈당을 조절한다. 인슐린 저항성은 인슐린이 충분한 상태에서 인슐린 또는 인슐린과 관련된 수용체 등이 제 기능을 하지 못하여 고혈당이 유지되는 것을 말한다[6, 12, 15, 30]. 본 연구에서 혈중 글루코스 함량 및 인슐린 농도 측정과 HOMA-IR 계산을 하였다(Table 5). 혈중 글루코스 함량, 인슐린 농도 및 HOMA-IR은 HFD가 ND에 비해 증가하는 것을 확인하였다($p<0.01$). 실험식이에 따른 혈중 글루코스 함량은 2.5% FRM에서 HFD와 비교하였을 때 27.17% 감소하였다($p<0.05$). 양성대조군인 PG, PM은 HFD와 비교하여 각각 16.1%, 13.6% 감소하였다($p<0.05$). 실험식이에 따른 혈중

인슐린 농도는 2.5% NRM과 양성대조군인 PG, PM에서 각각 61.42%, 56.12%, 74.93% 감소하였다($p<0.05$). 그러나, 2.5% NRM과 1.25% NRM에서는 HFD에 비해 감소하는 경향은 보였지만 유의성은 확인하지 못했다. 인슐린 저항성 지표인 HOMA-IR은 HFD와 비교하였을 때 모든 군에서 낮아지는 것을 확인하였다($p<0.05$). HFD와 비교한 HOMA-IR은 2.5% NRM, 1.25% FRM, 2.5% FRM 순서로 32.41%, 45.41%, 69.15% 낮았으며, 양성대조군인 PG, PM은 HFD에 비해 각각 71.03%, 88.07% 감소하였다. 제 2 당뇨병모델로 제작한 rats에서 고추 분말을 섭취하였을 때 HOMA-IR이 유의성 있게 감소된다고 보고하였다[32]. 또한, 유산균 발효약초를 섭취시킨 고혈당 유발 rats의 HOMA-IR은 발효하지 않은 약초만을 섭취한 rats보다 낮은 수치를 갖는다고 보고되었다[25]. 본 연구에서도 발효 홍고추의 농도가 높을수록 글루코스 함량 및 인슐린 농도가 HFD와 발효하지 않은 홍고추 또는 저농도의 발효 홍고추보다 매우 낮게 측정되었다. 또한, 인슐린 저항성 지표인 HOMA-IR에서도 다른 군에 비해 매우 낮게 측정되었다. 본 연구를 통해 유리 지방산 및 혈중 지질 증가는 간 및 근육 등에 존재하는 인슐린 수용체 및 인슐린 관련 기전의 이상을 유발시키므로, 혈중 인슐린이 증가되어도 고혈당이 유지되는 인슐린 저항성

Table 5. Effects of the fermented (*Capsicum annuum* L.) on serum glucose, insulin levels and HOMA-IR in mice

	ND ¹⁾	HFD	2.5% NRM	1.25% FRM	2.5% FRM	PG	PM
Glucose level (mg/dL)	135.47±41.84 ^{2)3)**}	223.30±25.79 ⁴⁾	229.47±32.25 ^a	220.90±24.74 ^a	175.59±14.21 ^b	178.34±27.75 ^c	186.31±34.30 ^c
Insulin level (ng/ml)	0.35±0.04 ^{**}	2.07±0.04 ^a	1.48±0.28 ^{ab}	1.36±0.54 ^{abc}	0.80±0.34 ^{cd}	0.91±0.26 ^{bcd}	0.52±0.16 ^d
HOMA-IR ⁵⁾	0.08±0.02 ^{**}	0.86±0.11 ^a	0.58±0.15 ^b	0.47±0.21 ^{bc}	0.27±0.14 ^{cd}	0.25±0.06 ^{cd}	0.10±0.04 ^d

¹⁾Groups are the same as in Table 2.

²⁾All values are mean ± SD.

^{3)**}Significantly different between the ND and the HFD by t-test ($p<0.01$),

⁴⁾Values with different superscripts are significantly different among high fat diet groups by ANOVA with Duncan's multiple range test at $p<0.05$.

⁵⁾HOMA-IR : homestasis model assessment blood glucose (mg/dL) × insulin (μIU/ml)/405.

이 발생하게 된다[15, 25, 32]. 본 연구에서는 앞선 인슐린 저항성을 낮춰주는 효과가 있는 홍고추를 유산균 발효를 통해 발효 하지 않은 홍고추보다 인슐린 저항성 효과가 더 큰 것을 확인하였다. 본 연구를 통해 분리된 *L. plantarum* BHN-LAB 33을 이용한 홍고추의 발효 추출물은 기능성 생리활성을 증대시키는 매우 유용한 기술이며, 이를 통해 비만 및 혈당조절이 가능한 소재로 활용 가능성을 확인하였다.

홍고추는 강력한 항산화물질이 다량 함유되어 있기 때문에, 비만, 항염증 및 성인병에 대해 우수한 효과가 보고되었다. 따라서, 홍고추를 이용한 식품 소재 활용 연구개발이 많이 진행되고 있다. 유산균은 면역증강, 장내 유해 세균 제거, 알레르기, 콜레스테롤 저하 등 다양한 기능성 생리활성효능이 알려져 있다. 이에, 본 연구에서는 홍고추와 유산균을 이용하였으며, 홍고추를 유산균으로 발효 후 항비만 및 항당뇨와 같은 성인병 질환의 효과를 검토하기 위해 *in vivo* model을 이용하여 그 효과를 검증하였다. 유산균으로 발효를 한 홍고추가 고지방식으로 비만이 유도되어 제 2형 당뇨병 특성을 나타내는 C57BL/6N mice에서 지질수준 개선, 비만 및 혈당조절에 미치는 영향을 알아보기 위해 C57BL/6N mice에 8주간 고지방식을 급여하여 비만과 고혈당을 유도하고 홍고추가 비만 및 혈당에 미치는 영향을 확인하였다. 실험동물은 정상 대조군(ND), 고지방식이 대조군(HFD), 고지방식이+발효하지 않은 2.5% 홍고추 투여군(2.5% NRM), 고지방식이+발효 1.25% 홍고추 투여군(1.25% FRM), 고지방식이+발효 2.5% 홍고추 투여군(2.5% FRM), 고지방식이+1% 가르시니아 캄보지아 추출물(PG), 고지방식이+1% 상백피 에탄올 추출물(PM) 6군으로 나누어 사육하였다. 실험결과 8주간 시험물질이 섞여있는 사료를 섭취시켰을 때 2.5% NRM, 1.25% FRM, 2.5% FRM 모두 HFD과 유의한 차이를 보였다. 특히, 2.5% FRM은 체중, 간, 부고환 지방 무게, 경구당 부하검사 후 혈당반응 면적, 글루코스 지수, 혈중 인슐린 농도 및 HOMA-IR, 총콜레스테롤, 중성지방을 측정한 결과, 모든 실험에서 HFD와 비교하였을 때 유의적으로 차이를 보이며 큰 효과를 보였다. 또한, 2.5% NRM과 비교하였을 때도 모든 고지혈증, 항비만 및 항당뇨실험에서 효과를 보였다. 본 연구를 통해, 발효 홍고추 섭취는 고지방식을 통해 비만/당뇨로 유발시킨 C57BL/6N mice의 지질수준 개선, 비만, 혈당조절에 긍정적인 영향을 확인하였으며, 이를 이용한 건강기능식품으로 개발 가능성이 매우 높다고 판단된다. 향후, 발효홍고추의 생리활성증대 효과는 좀 더 심도 있는 연구가 필요할 것으로 생각된다. 또한, *L. plantarum* BHN-LAB 33 유산균 발효는 기능성 생리활성효과를 증대시킬 수 있는 매우 유익한 기술임을 확인하였다.

감사의 글

본 연구는 2017년도 중소벤처기업부의 기술개발사업 지원에 의한 연구임[S2537226].

References

- Ahmed, F. E. 2003. Genetically modified probiotics in foods. *Trends Mol. Med.* **21**, 491-497.
- Bastard, J. P., Maachi, M., Lagathu, C., Kim, M. J., Caron, M., Vidal, H., Capeau, J. and Feve, B. 2006. Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. *Eur. Cytokine Netw.* **17**, 4-12.
- Beckman, J. A., Creager, M. A. and Libby, P. 2002. Diabetes and atherosclerosis: epidemiology, pathophysiology, and management. *JAMA* **287**, 2570-2581.
- Choi, S. M., Jeon, Y. S., Rhee, S. H. and Park, K. Y. 2002. Red pepper powder and kimchi reduce body weight and blood and tissue lipids in rats fed a high fat diet. *J. Food Sci.* **7**, 162-167.
- Daisy, P. and Saipriya, K. 2012. Biochemical analysis of *casia fistula* aqueous extract and phytochemically synthesized gold nanoparticles as hypoglycemic treatment for diabetes mellitus. *Int. J. Nanomed.* **7**, 1189.
- Dandona, P., Aljada, A. and Bandyopadhyay, A. 2004. Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. *Trends Immunol.* **25**, 4-7.
- Davies, B. H., Matthews, S. and Kirk, J. T. O. 1970. The nature and biosynthesis of the carotenoids of different colour varieties of *capsicum annum*. *Phytochemistry* **9**, 797-805.
- Esser, N., Legrand-Poels, S., Piette, J., Scheen, A. J. and Paquot, N. 2014. Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes. *Diabetes Res. Clin. Pract.* **105**, 141-150.
- Group, U. P. D. S. 1998. Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34). *Lancet* **352**, 854-865.
- Ha, K. H. and Kim, D. J. 2016. Current status of managing diabetes mellitus in Korea. *Kor. J. Intern. Med.* **31**, 845-850.
- Hanniffy, S., Wiedermann, U., Repa, A., Mercenier, A., Daniel, C., Fioramonti, J., Tlaskolova, H., Kozakova, H., Israelsen, H. and Madsen, S. 2004. Potential and opportunities for use of recombinant lactic acid bacteria in human health. *Adv. Appl. Microbiol.* **56**, 1-64.
- Hotamisligil, G. S., Peraldi, P., Budavari, A., Ellis, R., White, M. F. and Spiegelman, B. M. 1996. IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in *tnf- α* -and obesity-induced insulin resistance. *Science* **271**, 665-670.
- Ji, C., Dai, Y., Jiang, W., Liu, J., Hou, M., Wang, J., Burén, J. and Li, X. 2014. Postnatal overfeeding promotes early onset and exaggeration of high-fat diet-induced nonalcoholic fatty liver disease through disordered hepatic lipid metabolism in rats. *J. Nutr. Biochem.* **25**, 1108-1116.
- Joung, H., Kim, C. H., Lee, Y., Kim, S. K. and Do, M. S. 2017. Anti-diabetic and anti-inflammatory effects of purple corn extract in high-fat diet induced obesity mice. *Kor. J. Food Nutr.* **30**, 696-702.
- Kahn, B. B. and Flier, J. S. 2000. Obesity and insulin resistance. *Eur. J. Clin. Nutr.* **106**, 473-481.
- Kalliomäki, M., Salminen, S., Arvilommi, H., Kero, P., Koskinen, P. and Isolauri, E. 2001. Probiotics in primary pre-

- vention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* **357**, 1076-1079.
17. Kim, M. A., Jeong, Y. S., Chun, G. T. and Cha, Y. S. 2009. Antihyperlipidemic and glycemic control effects of mycelia of *Inonotus obliquus* including protein-bound polysaccharides extract in c57bl/6j mice. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **38**, 667-673.
 18. Kim, S. A., 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.). *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **38**, 615-620.
 19. Miyazawa, K., He, F., Yoda, K. and Hiramatsu, M. 2012. Potent effects of, and mechanisms for, modification of cross-talk between macrophages and adipocytes by lactobacilli. *Microbiol. Immunol.* **56**, 847-854.
 20. Must, A., Spadano, J., Coakley, E. H., Field, A. E., Colditz, G. and Dietz, W. H. 1999. The disease burden associated with overweight and obesity. *JAMA* **282**, 1523-1529.
 21. Nair, S. and Wilding, J. P. 2010. Sodium glucose cotransporter 2 inhibitors as a new treatment for diabetes mellitus. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **95**, 34-42.
 22. Olokoba, A. B., Obateru, O. A. and Olokoba, L. B. 2012. Type 2 diabetes mellitus: a review of current trends. *Oman Med. J.* **27**, 269.
 23. Panduru, M., Panduru, N., Sălăvăstru, C. and Tiplica, G. 2015. Probiotics and primary prevention of atopic dermatitis: a meta analysis of randomized controlled studies. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* **29**, 232-242.
 24. Park, C. R. 1975. A study on the influence of drying methods upon the chemical changes in red pepper. *J. Nutr. Health* **8**, 27-32.
 25. Park, J. H., Sung, K. S., Kim, S. S., Shim, G. S. and Han, C. K. 2012. Effects of puffed and fermented red ginseng on blood glucose-related biomarkers in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **41**, 630-637.
 26. Park, Y. M., Oh, H. G., Kang, Y. G., Kim, Y. P., Jang, S. H., Kim, H. J., Lee, S. W. and Lee, H. Y. 2015. Anti-obesity effects of lactic acid bacteria-fermented *Dioscorea* rhizoma powder on high fat diet-fed animal model. *J. Physiol. Pathol. Kor. Med.* **29**, 267-272.
 27. Shin, E. J., Kim, J. E., Kim, J. H., Park, Y. M., Yoon, S. K., Jang, B. C., Lee, S. P. and Kim, B. C. 2015. Effect of submerged culture of *Ceriporia lacerata* mycelium on GLUT4 protein in db/db mouse. *Kor. J. Food Preserv.* **22**, 893-900.
 28. Shin, H. Y., Lee, J. Y., Song, J., Lee, S., Lee, J., Lim, B., Kim, H. and Huh, S. 2016. Cause-of-death statistics in the Republic of Korea, 2014. *J. Kor. Med. Assoc.* **59**, 221-232.
 29. Shin, K. A. 2017. Triglyceride and glucose (TyG) index is a clinical surrogate marker for the diagnosis of metabolic syndrome. *J. Biomed. Sci.* **23**, 348-354.
 30. Stepan, C. M. and Lazar, M. A. 2002. Resistin and obesity-associated insulin resistance. *Trends Endocrinol. Metab.* **13**, 18-23.
 31. Wang, E. and Wylie-Rosett, J. 2008. Review of selected Chinese herbal medicines in the treatment of type 2 diabetes. *Diabetes Educ.* **34**, 645-654.
 32. Yang, H. J., Kwon, D. Y., Kim, M. J., Kang, S., Moon, N. R., Daily, J. W. and Park, S. 2015. Red peppers with moderate and severe pungency prevent the memory deficit and hepatic insulin resistance in diabetic rats with Alzheimer's disease. *Nutr. Metab.* **12**, 9.
 33. Yang, J. O. 2014. The current status and prospect of probiotic research and industrialization. *Kor. J. Food Sci.* **47**, 29-44.

초록 : 유산균을 이용한 홍고추의 발효를 통한 항비만과 항당뇨 효과

이준형^{1,2} · 김병혁¹ · 윤여초^{1,2} · 김중규^{1,2} · 박예은¹ · 박혜숙¹ · 황학수³ · 권인숙⁴ · 권기석^{2*} · 이중복^{1*}

(¹비에이치앤바이오 기업부설 생물산업소재개발연구소, ²안동대학교 생약자원학과, ³교촌 F&B, ⁴안동대학교 식품영양학과)

고추(*Capsicum annuum* L.)는 한국 전통 음식의 중요한 채소 중 하나이며, 비타민 A, 비타민 C, 비타민 E, 폴리페놀 및 플라보노이드를 많이 함유하고 있다. 또한 고추는 높은 항산화능을 가지고 있으며, 비만, 당뇨병, 고혈압, 소화 장애, 스트레스 및 노화를 예방하는데 효과적이라고 알려져 있다. 본 연구에서는 발효 홍고추 및 발효하지 않은 홍고추의 항비만 및 당뇨병 효과를 조사하였다. 8 주 동안 45% HFD를 공급하여 비만 유도 시킨 C57BL/6N 마우스는 HFD 사료와 2.5% NRM, 1.25% FRM, 2.5% FRM을 함유한 HFD 사료를 8 주간 투여하였다.식이섭취 시킨 후 7주 경과 후 경구당 부하검사(OGTT)를 진행하였고 8주 경과 후 체중, 간, 부고환 지방량, 혈청 인슐린 수치 및 HOMA-IR을 측정하고 지질 함량 검사를 시행하였다. 이 연구의 결과는 2.5% FRM이 HFD와 2.5% NRM 보다 체중, 조직 중량, 지질 함량, 혈청 인슐린 수치 및 HOMA-IR을 감소시켰다. 이 결과를 통해 발효 홍고추는 항비만 및 항당뇨에 효과가 있는 것을 확인하였다. 또한, 본 연구는 발효 홍고추를 이용한 건강기능식품 및 기능성 생리활성증대 소재의 기초자료로 활용할 수 있을 것이다.