

## 하바네로 고추 초산발효물의 품질 특성 및 생리활성 분석

박슬기<sup>1</sup> · 조승화<sup>1</sup> · 임은정<sup>1</sup> · 강현진<sup>1</sup> · 최동성<sup>2</sup> · 정도연<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>(재)발효미생물산업진흥원, <sup>2</sup>우석대학교 식품생명영양학과

### Quality characteristics and bioactivity analysis of habanero red pepper (*Capsicum chinense* Jacq.) through acetic acid bacteria fermentation

Seul-Ki Park<sup>1</sup>, Seung-Wha Jo<sup>1</sup>, Eun-Jung Yim<sup>1</sup>, Hyeon-Jin Kang<sup>1</sup>, Dong-Seong Choi<sup>2</sup>, and Do-Youn Jeong<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Microbial Institute for Fermentation Industry

<sup>2</sup>Department of Food Science and Nutrition, Woosuk University

**Abstract** Habanero red pepper (HRP)-fermented liquid with *Acetobacter pasteurianus* SRCM101474 was prepared, the quality characteristics measured and bioactivity analysis were measured. As the fermentation period increased, the number of viable cells increased, pH decreased, and acidity increased. After fermentation, the organic acid content of HRP was confirmed to be acetic acid with the highest content of 33413.54 ppm. Analysis of capsaicin and dihydrocapsaicin showed that the increase was significantly raised as acetic acid fermentation progressed. The total phenol and flavonoid contents as well as the antioxidant activity increased as the fermentation period passed. In addition,  $\alpha$ -glucosidase inhibitory and pancreatic lipase inhibitory activities were significantly increased after fermentation. It was confirmed that it can be used as a functional material by measuring the physiological activities of antioxidant, anti-obesity, and anti-diabetes through fermentation, and the possibility of development as a spicy material and application product using it as capsaicin increases after fermentation.

**Keywords:** habanero red pepper, *Capsicum chinense*, acetic acid bacteria fermentation, quality characteristics, bioactivity analysis

## 서 론

최근 코로나19로 인하여 면역력과 건강에 대한 관심이 증가되면서 각종 기능성 식품과 원료 등에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 이에 따라 천연자원, 약용자원, 농산물 등의 다양한 원료가 가지는 생리활성 등에 대한 연구들이 다양하게 진행되고 있다(Park 등, 2014). 특히 미생물을 이용한 발효는 그 원료가 가지고 있는 유효성분의 일부 또는 다수가 당이 붙은 고분자로 구성되어 있는 경우에 체내 흡수에 지장이 있어 발효를 하면 당이 떨어져 나가면서 이를 저분자화 시켜 체내 흡수율을 증대시키고, 새로운 생리활성 물질의 생성, 풍미의 향상 등 많은 이점을 가진다(Na 등, 1996; Shirataki 등, 2000; Shon, 2007). 초산발효는 초산균에 의하여 에탄올이 산화되어 아세트산이 생기는 반응으로 아세트산 외에도 다양한 유기산, 당류, 아미노산, ester 등이 생성되는 대표적인 발효 과정이다(Jeong, 2009). 원료에 따라서 그들이 가지는 생리활성이 달라지기도 하지만 초산발효를 통하여, 식중독균의 살균 효과, 숙취 해소 효과, 체지방 감소, 고혈압 예방, 당뇨, 노화방지, 피로회복 등과 같은 생리활성이 보고되고 있다

(Ann 등, 1999; Hong 등, 2012; Keum, 1999; Lee 등, 1989; Shin 등, 2017).

하바네로 고추(*Capsicum chinense* Jacq.)는 청양고추에 비해 스크빌 지수가 30배 이상 높은 품종으로 색상, 매운맛 뿐만 아니라 향과 같은 감각적인 특성으로 인해 세계 여러 지역에서 인기 있는 향신료로 사용되고 있다(Pino 등, 2006). 하바네로 고추는 비타민 A와 C, 페놀 화합물, 플라보노이드 및 카로티노이드를 포함한 식물성 화학물질의 훌륭한 공급원으로 알려져 있다(Antonious 등, 2009). 하바네로와 관련된 연구로는 숙성단계별 및 품종별 항산화 효과(Castro-Concha 등, 2012; Castro-Concha 등, 2014), 지질 과산화 억제 효과(Oboh 등, 2007), 미생물의 항균 활성(Sosa-Moguel 등, 2017) 등이 보고되었다.

국내에는 하바네로 고추와 발효를 통한 연구 결과가 부족한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 하바네로 고추의 초산발효를 통해 항산화성, 항비만 등의 생리활성을 측정함으로써 기능성 소재로서의 가능성을 확인하고, 매운맛 소재 및 이를 활용한 응용제품으로 산업적 활용을 확인하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 초산 발효 방법

본 실험에서 사용한 하바네로 분말은 소노란 하바네로 파우더(Sonoran spice company habanero powder, USA)를 사용하였으며, 시료 사용 전까지 냉동보관 하였다. 하바네로 고추 분말에 증류수를 첨가하여 5% 농도(w/v)의 하바네로 고추액을 만든 후, 121°C, 15분 동안 멸균처리하여 초산발효의 시료로 사용하였다. 하바네

\*Corresponding author: Do-Youn Jeong, Microbial Institute for Fermentation Industry (MIFI), Sunchang, Jeonbuk 56048, Republic of Korea  
Tel: +82-63-650-2000  
Fax: +82-63-653-9590  
E-mail: jdy2534@korea.kr  
Received September 17, 2021; revised November 12, 2021;  
accepted November 25, 2021

로 고추의 초산발효를 위해 사용한 초산균은 재단법인 발효미생물산업진흥원(Sunchang, Jeollabuk-do, South Korea)이 보유하고 있는 초산 생성능이 우수한 *Acetobacter pasteurianus* SRCM101474로 GYE 배지(5% glucose, 1% yeast extract, 5% ethanol)에서 30°C, 175 rpm 조건으로 72시간 진탕배양하여 종균으로 사용하였다. 상기의 전처리 방법을 통해 하바네로 고추액에 발효주정 5% (v/v), 초산균 10% (v/v)을 접종하여 30°C, 175 rpm 조건으로 진탕배양하여 초산발효를 진행하였고, 발효기간 0, 3, 5일 별 시료를 취하여 품질 변화 및 생리활성 분석을 진행하였다.

**pH, 총 산도 및 생균수 측정**

pH는 시료 1 mL를 취하여 pH meter (S20, Mettler Toledo, Schwerzenbach, Switzerland)를 이용하여 실온에서 측정하였으며, 총 산도는 시료 1 mL에 0.1 N NaOH (Samchun Chem. Co, Seoul, Korea)를 첨가하여 pH 8.3에 도달할 때까지 소모된 양을 acetic acid로 환산하여 %로 표시하였다. 초산균 생균수를 측정하기 위하여 시료 1 mL를 취하여 9 mL 멸균수에 단계 희석한 다음, GYE 고체배지에 도말하였다. 30°C에서 48시간 배양한 다음 콜로니를 계수하여 측정하였다. 초산 발효물의 초산균 초기접종량은 약 6 log CFU/mL로 맞춰 접종한 다음, 발효 후 생균 수를 측정하였다.

**유기산 함량 분석 방법**

유기산의 분석은 시료 5 g에 증류수 45 mL를 가하여 1시간 동안 균질화시킨 후 0.45 µm membrane filter에 통과시킨 후 HPLC (Agilent 1200 series, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)를 사용하여 분석하였다. 이때 분석조건은 Aminex HPX-87P (300×7.8 mm, Bio-Rad, Hercules, CA, USA) column, 시료주입량은 20 µL, 이동상은 0.009 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Samchun Chem.), 유속은 0.6 mL/min, UV detector 210 nm, 칼럼 온도 50°C였으며, 분석에 사용한 유기산 acetic acid, citric acid, lactic acid, oxalic acid, succinic acid (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO)는 Sigma-Aldrich사의 표준품을 사용하였다.

**HPLC를 이용한 캡사이신 분석 방법**

Capsiacin과 dihydrocapsaicin은 Sigma-Aldrich사의 표준품을 사용하였다. 분석 시 사용된 컬럼은 YMC-Pack ODS-A (150×4.6 mm, 5 µm particle size), 이동상은 methanol:water (70:30), 유속은 0.8 mL/min, UV detector 280 nm, 칼럼 온도 35°C, 시료주입량은 20 µL로 HPLC를 이용하여 분석하였다.

**DPPH 라디칼 소거능 활성 측정 방법**

하바네로 초산 발효물의 생리활성 분석을 측정하기 위해 시료 10 mL를 원심분리(3,000 rpm, 10 min)하여 얻은 상등액을 0.2 µm syringe filter에 통과시킨 후 분석시료로 사용하였다. DPPH 라디칼 소거능은 시료 50 µL에 100 µM DPPH 용액(Sigma-Aldrich) 150 µL를 첨가하여 암소에서 30분간 반응시킨 후 microplate reader (Elisa reader, Infinite 200 Tecan, Grodic, Austria)를 이용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 양성대조구로는 ascorbic acid (Sigma-Aldrich)를 사용하였다. DPPH 라디칼 소거능은 아래의 식으로 산출하여 나타내었다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} = \frac{(\text{Absorbance}_{\text{control}} - \text{Absorbance}_{\text{sample}}) / \text{Absorbance}_{\text{control}}}{1} \times 100$$

**ABTS 라디칼 소거능 활성 측정 방법**

ABTS 라디칼 소거능은 시료 20 µL에 ABTS 용액(Sigma-Aldrich) 180 µL를 첨가하여 암소에서 2분간 반응시킨 후 microplate reader를 이용하여 734 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 양성대조구로는 ascorbic acid (Sigma-Aldrich)를 사용하였다. ABTS 라디칼 소거능은 아래의 식으로 산출하여 나타내었다.

$$\text{ABTS radical scavenging activity (\%)} = \frac{(\text{Absorbance}_{\text{control}} - \text{Absorbance}_{\text{sample}}) / \text{Absorbance}_{\text{control}}}{1} \times 100$$

**총 폴리페놀 함량 측정 방법**

총 페놀 함량은 Folin-Denis 변법에 따라 추출된 시료를 농도별로 적절히 희석한 후 측정하였다. 각 농도별 시료 200 µL에 Folin-Ciocalteu reagent (Sigma-Aldrich) 12.5 µL를 혼합하여 교반한 뒤, 60분 동안 상온에서 방치하여 반응시켰다. 반응액의 흡광도 값은 765 nm에서 분석하였다. 총 페놀 함량은 gallic acid (Sigma-Aldrich) 분석 시료와 동일한 방법으로 분석하여 얻은 표준 검량선으로부터 시료 추출물의 총 페놀 함량을 산출하였고, 총 폴리페놀 함량은 mL 중의 µg gallic acid equivalent (GAE)로 나타내었다.

**총 플라보노이드 함량 측정 방법**

총 플라보노이드 함량은 Davis 변법에 따라 추출된 시료를 농도별로 적절히 희석한 후 측정하였다. 각 농도별 시료 0.5 mL에 10% aluminum nitrate (Sigma-Aldrich) 0.1 mL, 1 M potassium acetate (Sigma-Aldrich) 0.1 mL 및 ethanol 4.3 mL를 차례로 가하여 혼합한 후 상온에서 40분간 방치하여 반응시켜 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 quercetin (Sigma-Aldrich)을 시료와 동일한 방법으로 분석하여 얻은 표준 검량선으로부터 시료 추출물의 총 플라보노이드 함량을 산출하였고, 총 플라보노이드 함량은 mL 중의 µg quercetin equivalent (QE)로 나타내었다.

**α-Glucosidase 억제 활성 측정 방법**

α-Glucosidase 억제 활성을 측정하기 위해 Watanabe 등(1997)의 방법을 변형하여 측정하였다. α-glucosidase (G3651-50UN, Sigma-Aldrich)을 0.1 M sodium phosphate buffer (pH 6.8) 용액에 녹여 효소액(0.5 unit/mL)로 조제하였고, 5 mM p-nitro-phenyl-α-glucopyranoside (p-NPG, N1377, Sigma-Aldrich)도 동일한 buffer에 용해하여 기질용액으로 하였다. 기질용액 40 µL를 96 well plate에 분주한 후 시료액 20 µL를 첨가하여 혼합하였고, 대조구로 buffer, 양성대조구로는 acarbose (Sigma-Aldrich) 용액도 각각 같은 방법으로 첨가한 후 효소액 40 µL를 첨가하여 혼합한 후 30분 동안 37°C incubator에서 반응시켰다. 반응을 정지하기 위해 0.25 M sodium carbonate (S2127, Sigma-Aldrich) 0.1 mL을 첨가하여 혼합한 후 microplate reader를 이용하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였고 아래의 계산식으로 저해 활성을 평가하였다.

$$\alpha\text{-glucosidase inhibition activity (\%)} = \frac{1 - (B - C) / A}{1} \times 100$$

- A: Absorbance without addition of the sample
- B: Absorbance of the sample
- C: Absorbance without addition of the enzyme

### Pancreatic lipase 억제 활성 측정 방법

Pancreatic lipase 저해 활성을 측정하기 위해 porcine pancreatic lipase (L3126, Sigma-Aldrich) 0.3 mg에 10 mM MOPS와 1 mM EDTA (pH 6.8)을 포함하는 buffer를 30  $\mu$ L를 넣고 tris buffer (100 mM tris-HCl, 5 mM CaCl<sub>2</sub>, pH 7.0)를 850  $\mu$ L 첨가하여 enzyme buffer를 준비하였다. Enzyme buffer에 시료 20  $\mu$ L를 첨가하여 37°C에서 15분 동안 반응시켰다. 반응 후 10 mM *p*-nitrophenyl butyrate (4-NPB, N9876, Sigma-Aldrich) 20  $\mu$ L를 첨가하여 37°C에서 15분 동안 반응시킨 다음 microplate reader를 이용하여 400 nm에서 흡광도를 측정하였고, 아래의 계산식으로 저해 활성을 계산하였다.

$$\text{Pancreatic lipase inhibitor activity (\%)} = [1 - (B - C) / A] \times 100$$

A: Absorbance without addition of the sample

B: Absorbance of the sample

C: Absorbance without addition of the enzyme

### 통계분석

본 연구의 각 시험항목별 실험 결과는 3회 반복 분석하여, SPSS program 23.0 (Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 통계처리 후 평균 및 표준편차로 나타내었다. 각 시험군간의 통계적 유의성 검증은  $p < 0.05$  수준에서 독립 표본 t검정 및 one-way ANOVA로 분석하였으며, Duncan's multiple test와 Levene's t-test를 이용하여 유의성을 검정하였다.

## 결과 및 고찰

### pH 및 총산도와 생균수

하바네로 고추 초산 발효물의 발효 시간별 pH, 총 산도 및 생균수를 분석한 결과를 Table 1에 나타내었다. 초산균을 접종하지 않은 대조구는 발효 시간별 pH, 총산도 및 생균수의 유의적인 차이를 보이지 않았다. 초산균을 접종한 시료구는 pH의 경우 초기 4.81에서 발효 3일 3.75, 발효 5일에 3.30로 감소하였다. 이에 따른 산도의 변화는 발효 3일에 1.22%, 발효 5일에 3.18%로 유의적으로 증가하는 경향을 보였다. 생균수의 경우 발효 0일 6.04 log CFU/mL에서 발효 3일 7.53 log CFU/mL로 증가하다가 5일 차에 유지하는 경향을 나타내었다. 상기 결과를 통하여 초산발효가 가능함을 확인할 수 있었다.

### 유기산 함량

하바네로 고추 초산 발효물의 발효 기간별 유기산 함량을 분석한 결과를 Table 2에 나타내었다. 하바네로 고추 초산 발효물의 유기산 함량은 acetic acid, citric acid, succinic acid, oxalic acid 순으로 확인되었고 lactic acid는 검출되지 않았다. 발효 0일에는 acetic acid가 검출되지 않았고, 발효 시간이 증가할수록 함량이 증가하여 발효 3일에 14668.61 ppm 발효 5일에 33413.54 ppm으로 증가하였는데, 이는 상기 산도의 결과와 유사한 경향을 나타내었다. 발효 시간이 증가함에 따라 oxalic acid를 제외하고 acetic acid, citric acid, succinic acid는 유의적으로 증가하였다. 하바네로 고추의 유기산은 citric acid가 가장 높은 함량을 차지하고, 그 다음은 malic acid, succinic acid 순의 함량을 나타낸다고 보고되었는데(Jarret 등, 2009) 본 연구결과 고추 자체의 유기산 구성에 영향을 받은 것으로 판단되며, 초산발효를 통한 acetic acid의 생성은 발효물 제조 시 다양한 풍미를 줄 수 있을 것으로 판단되었다. 한편 유기산은 식초의 신맛과 지미에 영향을 주고 식초의 품질에 중요한 영향을 미친다(Chung 등, 2015; Furukawa 와 Udea, 1963)고 보고되었으며, 식초의 주성분인 acetic acid는 초산균의 작용으로 생성되며 발효 관리의 지침이 된다(Moon 등, 1997)고 보고되고 있어 하바네로가 식초 제조용으로 적합할 것으로 판단된다.

### Capsaicin 및 dihydrocapsaicin 분석

하바네로 고추 초산 발효물의 발효 기간별 capsaicin 및 dihydrocapsaicin 분석 결과를 Fig. 1, 2에 나타내었다. Capsaicin 함량은 발효 0일에는 4.33 mg/100 g에서 발효 5일 5.67 mg/100 g으로 유의적인 증가를 보였고, dihydrocapsaicin 함량은 발효 0일 0.91 mg/100 g에서 발효 5일 1.41 mg/100 g으로 유의적인 증가를 보였다. Suzuki와 Iwai (1984)는 capsaicin이 산과 alkali에서 안정하다고 보고하였는데, 본 연구 결과 초산발효 후 capsaicin, dihydrocapsaicin의 증가와 일치하는 결과를 보였다. capsaicin은 혈중 지방 농도를 감소시키고, lipoprotein lipase의 활성을 증가시켜 체지방 양을 감소시켜 항비만 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다(Seo 등, 2009). Lee 등(1994) 및 Gang 등(2008)에서는 고추의 capsaicin이 항산화 활성을 가지고 있다고 보고하였다. 하지만 본 연구에서의 발효 후 capsaicin의 증가와 항산화, 항당뇨 활성의 영향을 미치는 여부는 추가적인 연구를 통하여 분석이 필요할 것으로 판단된다. Capsaicin과 dihydrocapsaicin의 매운맛 정도는 이들 비율에 따라 총 capsaicinoid 함량이 같더라도 capsaicin 비율

**Table 1.** pH, total acidity and viable cell count of habanero red pepper through acetic acid bacteria fermentation

		Fermentation time (days)		
		0	3	5
pH	Control <sup>1)</sup>	4.80±0.01 <sup>a3)4)</sup>	4.78±0.02 <sup>a</sup>	4.75±0.03 <sup>a</sup>
	Sample <sup>2)</sup>	4.81±0.01 <sup>c</sup>	3.75±0.04 <sup>*5)b</sup>	3.30±0.01 <sup>*a</sup>
Total acidity (%)	Control	0.33±0.01 <sup>a</sup>	0.34±0.02 <sup>a</sup>	0.33±0.01 <sup>a</sup>
	Sample	0.34±0.02 <sup>c</sup>	1.22±0.01 <sup>*b</sup>	3.18±0.39 <sup>*a</sup>
Viable cell count (log CFU/mL)	Control	-	-	-
	Sample	6.04±0.06 <sup>c</sup>	7.53±0.07 <sup>a</sup>	7.31±0.01 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Non-inoculated with acetic acid bacteria

<sup>2)</sup>Inoculated with acetic acid bacteria

<sup>3)</sup>Value are mean±SD (n=3).

<sup>4)</sup>Different letters (a, b, c) in the same row indicate a significant difference according to Duncan's multiple test ( $p < 0.05$ ).

<sup>5)</sup>Significant differences were compared with the control at  $*p < 0.05$  in the same column by Levene's t-test.

**Table 2. Organic acid contents of habanero red pepper through acetic acid bacteria fermentation**

unit: ppm

Organic acids		Fermentation time (days)		
		0	3	5
Oxalic acid	Control <sup>1)</sup>	38.45±0.34 <sup>a3)4)</sup>	37.59±0.52 <sup>a</sup>	38.62±0.12 <sup>a</sup>
	Sample <sup>2)</sup>	38.55±0.60 <sup>a</sup>	37.68±0.46 <sup>a</sup>	38.05±0.08 <sup>a</sup>
Citric acid	Control	250.45±0.89 <sup>a</sup>	252.12±1.21 <sup>a</sup>	251.55±0.32 <sup>a</sup>
	Sample	250.72±0.23 <sup>a</sup>	253.04±0.69 <sup>b</sup>	258.05±0.84 <sup>*5)c</sup>
Succinic acid	Control	187.55±0.14 <sup>a</sup>	188.22±0.45 <sup>a</sup>	187.63±0.51 <sup>a</sup>
	Sample	188.65±0.64 <sup>b</sup>	190.92±0.89 <sup>ab</sup>	193.99±0.18 <sup>*a</sup>
Lactic acid	Control	-	-	-
	Sample	-	-	-
Acetic acid	Control	-	-	-
	Sample	-	14668.61±486.79	33413.54±661.83

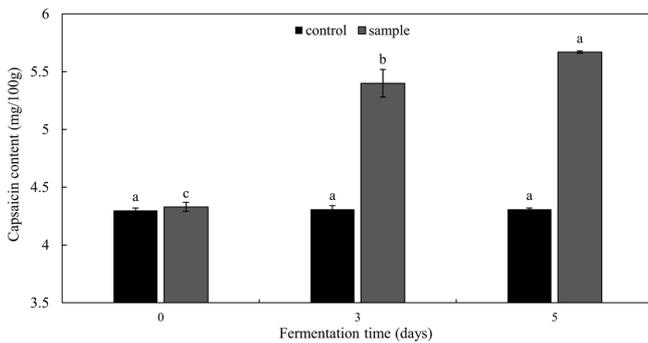
<sup>1)</sup>Non-inoculated with acetic acid bacteria

<sup>2)</sup>Inoculated with acetic acid bacteria

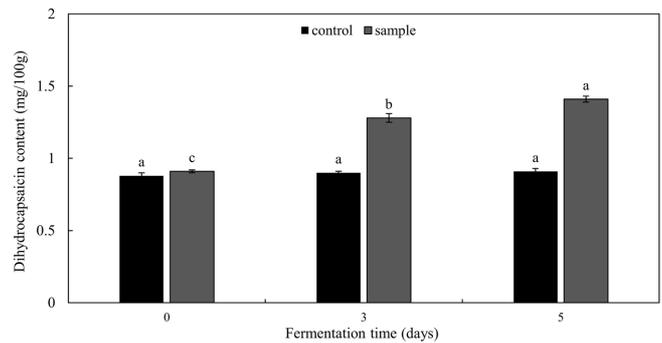
<sup>3)</sup>Value are mean±SD (n=3).

<sup>4)</sup>Different letters (a, b, c) in the same row indicate a significant difference according to Duncan's multiple test ( $p<0.05$ ).

<sup>5)</sup>Significant differences were compared with the control at  $*p<0.05$  in the same column by Levene's t-test.



**Fig. 1. Capsaicin contents of habanero red pepper through acetic acid bacteria fermentation.** Control, non-inoculated with acetic acid bacteria; sample, inoculated with acetic acid bacteria; Value are mean±SD (n=3). Means with different letters (a, b, c) above a bar are significantly different at  $p<0.05$  for each fermentation period.



**Fig. 2. Dihydrocapsaicin contents of habanero red pepper through acetic acid bacteria fermentation.** Control, non-inoculated with acetic acid bacteria; sample, inoculated with acetic acid bacteria; Value are mean±SD (n=3). Means with different letters (a, b, c) above a bar are significantly different at  $p<0.05$  for each fermentation period.

이 dihydrocapsaicin보다 높을 경우 더 매운 맛을 보인다(Tood 등, 1977; Yu 등, 2009). 본 연구결과를 활용하여 하바네로 고추 초산 발효물은 매운맛을 추구하는 소비자들을 위한 식품 소재 또는 응용제품 개발로 활용할 수 있을 것으로 판단된다.

**총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량**

하바네로 고추 초산 발효물의 발효 기간별 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량을 Table 3에 나타내었다. 식물체에 함유되어 있는 폴리페놀 화합물들은 다양한 항산화 생리활성 기능을 가지고 있는데, 이는 분자 내 -OH group이 효소 단백질과 같은 거대 분자들과 결합하는 성질이 있어 이러한 생리활성 기능을 나타내는 주체로 인정되고 있다고 알려져 있다(Lee 등, 1996). 플라보노이드는 폴리페놀에 속하는 성분으로 활성산소종을 효과적으로 제거하여 항산화능이 높다고 많이 보고되었다(Heim 등, 2002; Tsao, 2010). 하바네로 고추 초산 발효물의 총 페놀함량은 발효 0일 439.91 µg GAE/mL에서 발효 5일 578.05 µg GAE/mL로 약 30% 증가하였고, 총 플라보노이드 함량도 약 30% 정도 유의적으로

증가하였다. 이는 초산균 대사과정을 통한 생물전환이 이루어져 생리활성 물질의 증가에 영향을 미친 것으로 보여지며, 정확한 전환에 대해서는 추가 연구가 필요할 것으로 판단된다.

**DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능**

하바네로 고추 초산 발효물의 발효 기간별 항산화 활성을 측정된 결과는 Table 4에 나타내었다. DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능은 불안정한 활성산소에 proton ion을 제공하여 안정화 되도록 유도하는 기능으로 우리 몸에서 발생하는 불안정하고 유해한 유리기를 안정화시키는 역할을 한다(Canadanovic-Brunet 등, 2005; Kim 등, 2000). 생체의 생리작용 혹은 산화작용에 의하여 발생하는 hydroxyl radical, superoxide radical 등을 제거하는 항산화 능력을 평가할 때 사용되는 지표로 라디칼 소거능이 높을수록 항산화능이 우수한 것으로 판단한다. 많은 연구에서 총 페놀 및 플라보노이드 함량이 우수할수록 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거 활성이 우수하다고 보고되었다(Labuzza, 1971; Xu 등, 2007). 하바네로 고추 초산 발효물은 발효 기간이 증가함에 따라 DPPH 라디

**Table 3. Total phenol contents and total flavonoid contents of habanero red pepper through acetic acid bacteria fermentation**

		Fermentation time (days)		
		0	3	5
Total phenol contents ( $\mu\text{g GAE/mL}$ )	Control <sup>1)</sup>	440.25 $\pm$ 5.12 <sup>a3)4)</sup>	442.87 $\pm$ 4.12 <sup>a</sup>	441.02 $\pm$ 2.58 <sup>a</sup>
	Sample <sup>2)</sup>	439.91 $\pm$ 17.36 <sup>c</sup>	557.36 $\pm$ 6.30 <sup>*5)b</sup>	578.05 $\pm$ 7.39 <sup>*a</sup>
Total flavonoid contents ( $\mu\text{g QE/mL}$ )	Control	245.85 $\pm$ 2.45 <sup>a</sup>	243.57 $\pm$ 4.39 <sup>a</sup>	245.84 $\pm$ 1.58 <sup>a</sup>
	Sample	244.31 $\pm$ 5.30 <sup>c</sup>	292.22 $\pm$ 3.54 <sup>*b</sup>	332.22 $\pm$ 1.18 <sup>*a</sup>

<sup>1)</sup>Non-inoculated with acetic acid bacteria<sup>2)</sup>Inoculated with acetic acid bacteria<sup>3)</sup>Value are mean $\pm$ SD (n=3).<sup>4)</sup>Different letters (a, b, c) in the same row indicate a significant difference according to Duncan's multiple test ( $p<0.05$ ).<sup>5)</sup>Significant differences were compared with the control at  $*p<0.05$  in the same column by Levene's t-test.**Table 4. DPPH and ABTS radical scavenging activity of Habanero red pepper through acetic acid bacteria fermentation**

		Fermentation time (days)		
		0	3	5
DPPH radical scavenging (%) <sup>6)</sup>	Control <sup>1)</sup>	58.73 $\pm$ 0.55 <sup>a3)4)</sup>	59.01 $\pm$ 0.78 <sup>a</sup>	58.45 $\pm$ 0.36 <sup>a</sup>
	Sample <sup>2)</sup>	58.55 $\pm$ 1.14 <sup>c</sup>	64.84 $\pm$ 0.55 <sup>*5)b</sup>	69.68 $\pm$ 0.20 <sup>*a</sup>
ABTS radical scavenging (%) <sup>7)</sup>	Control	58.98 $\pm$ 0.72 <sup>a</sup>	59.14 $\pm$ 0.55 <sup>a</sup>	59.54 $\pm$ 0.42 <sup>a</sup>
	Sample	59.74 $\pm$ 0.54 <sup>b</sup>	71.72 $\pm$ 0.43 <sup>*a</sup>	72.06 $\pm$ 0.19 <sup>*a</sup>

<sup>1)</sup>Non-inoculated with acetic acid bacteria<sup>2)</sup>Inoculated with acetic acid bacteria<sup>3)</sup>Value are mean $\pm$ SD (n=3).<sup>4)</sup>Different letters (a, b, c) in the same row indicate a significant difference according to Duncan's multiple test ( $p<0.05$ ).<sup>5)</sup>Significant differences were compared with the control at  $*p<0.05$  in the same column by Levene's t-test.<sup>6)</sup>Positive control in assay (Ascorbic acid IC<sub>50</sub>: 1.85 $\pm$ 0.33 mg/mL)<sup>7)</sup>Positive control in assay (Ascorbic acid IC<sub>50</sub>: 3.42 $\pm$ 0.25  $\mu\text{g/mL}$ )**Table 5.  $\alpha$ -glucosidase and pancreatic lipase inhibition activity of habanero red pepper through acetic acid bacteria fermentation**

		Fermentation time (days)		
		0	3	5
$\alpha$ -Glucosidase inhibition activity (%) <sup>6)</sup>	Control <sup>1)</sup>	27.70 $\pm$ 0.59 <sup>a3)4)</sup>	28.45 $\pm$ 1.25 <sup>a</sup>	28.21 $\pm$ 0.68 <sup>a</sup>
	Sample <sup>2)</sup>	25.60 $\pm$ 0.84 <sup>c</sup>	45.12 $\pm$ 1.75 <sup>*5)b</sup>	85.89 $\pm$ 0.19 <sup>*a</sup>
Pancreatic lipase inhibition activity (%) <sup>7)</sup>	Control	27.70 $\pm$ 0.54 <sup>a</sup>	28.15 $\pm$ 0.63 <sup>a</sup>	27.82 $\pm$ 0.15 <sup>a</sup>
	Sample	27.15 $\pm$ 0.98 <sup>c</sup>	62.35 $\pm$ 0.78 <sup>*b</sup>	90.70 $\pm$ 0.25 <sup>*a</sup>

<sup>1)</sup>Non-inoculated with acetic acid bacteria<sup>2)</sup>Inoculated with acetic acid bacteria<sup>3)</sup>Value are mean $\pm$ SD (n=3).<sup>4)</sup>Different letters (a, b, c) in the same row indicate a significant difference according to Duncan's multiple test ( $p<0.05$ ).<sup>5)</sup>Significant differences were compared with the control at  $*p<0.05$  in the same column by Levene's t-test.<sup>6)</sup>Positive control in assay (acarbose IC<sub>50</sub>: 1.85 $\pm$ 0.33 mg/mL)<sup>7)</sup>Positive control in assay (orlistat IC<sub>50</sub>: 3.42 $\pm$ 0.25  $\mu\text{g/mL}$ )

칼 소거능이 0일에 58.55%에서 5일차 69.68%로 약 1.2배 증가하였고, ABTS 라디칼 소거능은 0일에 59.74%에서 5일차 72.06%로 유의적인 증가를 보였다. Heim 등(2002)에서는 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량이 증가할수록 DPPH, ABTS 라디칼 소거능이 증가하여 항산화 활성이 증가한다고 보고하였는데, 본 연구 결과와 일치하는 결과를 보였다.

#### $\alpha$ -Glucosidase 및 pancreatic lipase 억제 활성

$\alpha$ -Glucosidase는 소장 점막 용모에 존재하는 소화효소로서, 체내로 들어온 다당류 형태의 탄수화물을 단당류로 가수분해하여 당이 체내로 흡수되도록 한다.  $\alpha$ -Glucosidase 억제는 소장 내에서

탄수화물 소화를 지연시켜 식후 혈당이 증가하는 것을 약화시켜 혈당을 조절할 수 있다(Hillebrand 등, 1979; Van de Laar, 2008). 하바네로 고추 초산 발효물의 발효 기간별  $\alpha$ -glucosidase 저해 활성을 농도 10 mg/mL에서 측정된 결과 발효 전 25.60%에서 발효 후 85.89%로 유의적으로 증가하는 결과를 보였다(Table 5). 양성 대조구로 이용된 acarbose (IC<sub>50</sub>: 1.85 mg/mL)에 비해 하바네로 고추 발효물의 농도 대비 활성은 낮았지만 발효 전에 비하여 발효 후 높은 활성을 나타내었다. 이는 하바네로 고추 초산 발효물이 혈당 조절에 도움을 줄 것으로 판단되었다.

Pancreatic lipase는 중성지방을 지방산으로 가수분해하는 효소로 효소의 활성이 과도하면 지방 축적이 높아져 비만을 초래할

수 있다. 지방흡수의 중요한 역할을 하는 lipase의 활성을 저해함으로써 지방의 축적을 막을 수 있다(Kwon 등, 2014). 하바네로 고추 초산 발효물의 발효 기간별 pancreatic lipase 저해 활성을 1 mg/mL 농도에서 측정된 결과, 발효 전 27.15%에서 발효 후 90.70%로 유의적인 증가를 보였다. Lee 등(2019)에서는 유산균으로 발효한 홍고추의 항비만 및 항당뇨 효과에 대해 조사하였는데, *in vivo* model에서 mice의 지질 수준 개선, 비만, 혈당조절에 긍정적인 영향을 확인하였다고 보고하였다. 상기 결과와 비슷하게 초산균 비접종구에서는 유의적인 차이가 나타나지 않았고, 초산 발효구에서 증가하는 경향을 보여주었는데, 이는 발효를 통하여 생산된 대사산물이 유효성분으로 작용하고 전환된 물질을 통해 활성이 증가한 것으로 판단된다.

요 약

*Acetobacter pasteurianus* SRCM101474로 발효한 하바네로 고추 발효액을 제조하고, 품질분석 및 생리활성 분석을 측정하였다. 발효 기간이 증가함에 따라 생균수가 증가하였고, pH는 감소, 산도는 0.34%에서 3.18%로 증가하였다. 하바네로 고추 초산 발효물의 유기산 함량은 acetic acid, citric acid, succinic acid, oxalic acid 순으로 확인되었고, 발효 종료 시 acetic acid 함량이 33413.54 ppm으로 가장 높은 함량을 나타내었다. 매운맛 성분인 capsaicin과 dihydrocapsaicin 분석 결과 초산발효가 진행될수록 유의적으로 증가함을 보였다. 항산화 평가를 위해 총 페놀 및 플라보노이드 함량 및 DPPH, ABTS 라디칼 소거능을 측정된 결과 발효 기간이 지날수록 총 페놀함량 및 플라보노이드 함량이 증가하였고 항산화 활성도 유의적으로 증가하였다. 또한, α-glucosidase 억제 및 pancreatic lipase 억제 활성도 발효 후에 유의적으로 증가함을 보였다. 하바네로 고추의 초산 발효물의 항산화 활성 및 α-glucosidase, pancreatic lipase 억제 활성을 측정함으로써 기능성 소재로의 가능성을 확인하였고, 발효 후 capsaicin이 증가함에 따라 매운맛 소재 및 이를 활용한 응용제품으로서의 개발 가능성을 확인하였다.

감사의 글

본 연구는 농림축산식품부 지역전략식품산업육성사업(2020-01) 지원에 의해 수행되었습니다.

References

Ann YG, Kim SK, Shin CS. Studies on ginseng vinegar. *Korean J. Food Nutr.* 12: 447-454 (1999)  
 Antonious GF, Lobel T, Kochhar T, Berke T, Jarret R. Antioxidants in *Capsicum chinense*: variation among countries of origin. *J. Environ Sci Health* 44: 621-626 (2009)  
 Canadanovic-Brunet JM, Djilas SM, Cetkovic GS, Tumbas VT. Free-radical scavenging activity of wormwood (*Artemisia absinthium* L.) extracts. *J. Sci. Food Agr.* 85: 265-272 (2005)  
 Castro-Concha LA, Canche-Chuc I, MirandaHam MDL. Determination of antioxidants in fruit tissues from three accessions of habanero pepper (*Capsicum chinense* Jacq.). *J. Mex. Chem. Soc.* 56: 15-18 (2012)  
 Castro-Concha LA, Tuyub-Che J, Moo-Mukul A, Vazquez-Flota FA, Miranda-Ham ML. Antioxidant capacity and total phenolic content in fruit tissues from accessions of *Capsicum chinense* Jacq.(Habanero pepper) at different stages of ripening. *Sci. World J.* 5: 140-145 (2014)  
 Chung NH, Jo YH, Gao A, Gu SY, Jeong YJ, Kwon JH. Compari-

son of physicochemical properties and antioxidant activities of naturally-fermented commercial rice vinegars produced in Korea, China, and Japan. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 44: 1799-1805 (2015)  
 Furukawa S, Udea R. Studies on non-volatile organic acid in vinegar. contents of non-volatile organic acid in commercial vinegars. *J. Ferment. Technol.* 41: 14-19 (1963)  
 Gang HM, Park HS, Rhim TJ, Kwon KR. A study on the comparison of antioxidant effects between hot pepper extract and capsaicin. *J. Pharmacopuncture* 11: 109-118 (2008)  
 Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ. Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism, and structure-activity relationships. *J. Nutr. Biochem.* 13: 572-584 (2002)  
 Hillebrand I, Boehme K, Frank G, Fink H, Berchtold P. The effects of the alpha-glucosidase inhibitor BAY g5421 (Acarbose) on meal-stimulated elevations of circulating glucose, insulin, and triglyceride levels in man. *Res. Exp. Med. (Berl.)* 175: 81-86 (1979)  
 Hong SM, Moon HS, Lee JH, Lee HI, Jeong JH, Lee MK, Seo KI. Development of functional vinegar by using cucumbers. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 41: 927-935 (2012)  
 Jarret RL, Berke T, Baldwin EA, Antonious GF. Variability for free sugars and organic acids in *Capsicum chinense*. *Chem. Biodivers.* 6: 138-145 (2009)  
 Jeong YJ. Current trends and future prospects in the Korean vinegar industry. *Food Sci. Ind.* 42: 52-59 (2009)  
 Keum JH. Studies on garlic and pumpkin vinegar. *Korean J. Food Nutr.* 12: 518-522 (1999)  
 Kim HK, Kwon YJ, Kim KH, Jeong YH. Changes of total polyphenol content and electron donating ability of *Aster glehni* extracts with different microwave-assisted extraction conditions. *Korean J. Food Sci. Technol.* 32: 1022-1028 (2000)  
 Labuza TP. Kinetics of lipid oxidation in foods. *Crit. Rev. Food Technol.* 2: 335-405 (1971)  
 Lee CH, Chung KY, Lim SC, Choi DY, Kim CJ, Choi BK. Studies on the antioxidant activity of capsaicin and oleoresin from red pepper in grounded bacon belly meat. *Korean J. Food Sci. Technol.* 26: 496-499 (1994)  
 Lee JH, Kim BH, Yoon YC, Kim JG, Park YE, Park HS, Lee JB. Effects against obesity and diabetes of red pepper (*Capsicum annum* L.) fermented with lactic acid bacteria. *J. Life Sci.* 29: 354-361 (2019)  
 Lee JS, Lee MG, Lee SW. A study on the general components and minerals in parts of omija (*Schizandra chinensis* Ballon). *J. Korean Soc. Food Cult.* 4: 173-176 (1989)  
 Lee SH, Ro JS, Lee KS, Ahn YJ, Kang SJ, Hwang BY, Park WY, Ahn BT. The phenolic components of *Sapium japonicum*. *Yakhak Hoeji* 40: 183-192 (1996)  
 Moon SY, Chung HC, Yoon HN. Comparative analysis of commercial vinegars in physicochemical properties, minor components and organoleptic tastes. *Korean J. Food Sci. Technol.* 29: 663-670 (1997)  
 Na HS, Kim KS, Lee MY. Effect of jujube methanol extract on the hepatotoxicity in CCl<sub>4</sub>-treated rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 25: 893-855 (1996)  
 Oboh G, Puntel R.L, Rocha JBT. Hot pepper (*Capsicum annum*, Tepin and *Capsicum chinense*, Habanero) prevents Fe<sup>2+</sup>-induced lipid peroxidation in brain *in vitro*. *Food Chem.* 102: 178-185 (2007)  
 Park TS, Kim DH, Kwon OJ, Son JH. A study on biological activities of fermented jujube and grape. *Microbiol. Biotechnol. Lett.* 42: 106-113 (2014)  
 Pino J, Sauri-Duch E, Marbot R. Changes in volatile compounds of Habanero chili pepper (*Capsicum chinense* Jack. cv. Habanero) at two ripening stages. *Food Chem.* 94: 394-398 (2006)  
 Seo YJ, Kim JY, Noh SK. Effect of enteral capsaicin on the lymphatic absorption of cholesterol and fats in rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 38: 1712-1717 (2009)  
 Shin JY, Kang JR, Shin JH, Seo WT, Byun HU, Choi JS, Kang MJ. Effects of Seomaeyakssuk (*Artemisia argyi* H.) vinegar on lipid metabolism in rats fed a high-fat and high-cholesterol diet. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 46(7): 779-789 (2017)

- Shirataki Y, Kawase M, Saito S, Kurihara T, Tanaka W, Satoh K. Selective cytotoxic activity of grape peel and seed extracts against oral tumor cell lines. *Anticancer Res.* 20: 423-426 (2000)
- Shon MY. Antioxidant and anticancer activities of *Poria cocos* and *Machilus thunbergii* fermented with mycelial mushrooms. *Food Ind. Nutr.* 12: 51-57 (2007)
- Sosa-Moguel O, Pino J.A, Ayora-Talavera G, Sauri-Duch E, Cuevas-Glory L. Biological activities of volatile extracts from two varieties of Habanero pepper (*Capsicum chinense* Jacq.). *Int. J. Food Prop.* 20: S3042-S3051 (2017)
- Suzuki T, Iwai K. Constituents of red pepper spices: chemistry, biochemistry, pharmacology, and food science of the pungent principle of Capsicum species. *The Alkaloids: Chem. Pharmacol.* 263: 227-229 (1984)
- Tood PH, Beninger MG, Biftu T. Determination of pungency due to capsicum by gas liquid chromatography. *J. Food Sci.* 42: 660-668 (1977)
- Tsao R. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients* 2: 1231-1246 (2010)
- Van de Laar FA. Alpha-glucosidase inhibitors in the early treatment of type 2 diabetes. *Vasc. Health Risk Manag.* 4: 1189-1195 (2008)
- Watanabe J, Kawabata J, Kurihara H, Niki R. Isolation and identification of  $\alpha$ -glucosidase inhibitors from tochucha (*Eucommia ulmoides*). *Biosci. Biotech. Biochem.* 61: 177-178 (1997)
- Xu Q, Tao W, Ao Z. Antioxidant activity of vinegar melanoidins. *Food Chem.* 102: 841-849 (2007)
- Yu JO, Choi WS, Lee US. Determination of capsaicin and dihydrocapsaicin in various species of red peppers and their powdered products in market by GC-MS analysis. *Food Eng. Prog.* 44: 1799-1805 (2009)