

*Monascus Pilosus*로 발효시킨 검정콩 첨가 식이가 고지방식이 마우스의 체중과 혈청 지방함량 및 간 조직 항산화계 효소활성에 미치는 영향*

이상일² · 김순동¹ · 이예경¹ · 김미정³ · 이인애¹ · 최종근¹ · 서주원^{1§}

명지대학교 생명과학정보학부,¹ 계명문화대학 식품영양조리학부,² 신성대학 호텔조리제빵계열³

Dietary effects of black bean fermented by *Monascus pilosus* on body weight, serum lipid profiles and activities of hepatic antioxidative enzymes in mice fed high fat diets*

Lee, Sang-Il² · Kim, Soon-Dong¹ · Lee, Ye-Kyung¹ · Kim, Mee-Jung³
Lee, In-Ae¹ · Choi, Jongkeun¹ · Suh, Joo-Won^{1§}

¹Division of Bioscience and Bioinformatics, College of Natural Science, Myongji University, Yongin 449-728, Korea

²Department of Food, Nutrition and Cookery, Keimyung College, Daegu 704-703, Korea

³Division of Hotel Culinary Arts and Bakery, Shinsung University, Dangjin 343-861, Korea

ABSTRACT

The anti-obesity effects of fermented black bean were tested with mice fed a high fat diet for seven weeks. Body weight gain and feed efficiency ratio (FER) in the high fat diet control (HC) group were markedly higher, compared with those of the normal control (NC) group, but were significantly lower in the 2% black bean powder supplemented high fat diet (BB) group and 2% black bean powder fermented by *M. pilosus* supplemented high fat diet (BBM) group, compared with those of the HC group. Food intake in the HC and BB groups was significantly lower than that of the NC and BBM groups. Water intake in the HC group was significantly lower than that of the NC group, but was higher in the BB and BBM groups, compared with that of the HC group. On the other hand, relative liver and kidney weight in the HC group was lower than that of the NC group, but was higher in the BB and BBM groups, compared with that of the HC group. In addition, whereas epididymal fat weight in the HC group was markedly higher than that of the NC group, it was significantly lower in the BB and BBM groups, compared with that of the HC group. Meanwhile, hepatic GSH in the HC group was significantly lower than that of the NC group, but was slightly higher in the BB and BBM groups, compared with that of the HC group. Although hepatic LPO in the HC group was dramatically higher than that of the NC group, it was significantly lower in the BB and BBM groups, compared with that of the HC group. In addition, serum TG, total cholesterol, and LDL-cholesterol in the HC group was significantly higher than that of the NC group, but was significantly lower in the BB and BBM groups, compared with that of the HC group. On the contrary, HDL-cholesterol in the HC group was significantly lower than that of the NC group, but was higher in the BB and BBM groups, compared with that of the HC group. In addition, activity of XOR D type in the HC group was lower than that of the NC group, but was slightly higher in the BB and BBM groups, compared with that of the NC group. Activities of ROS scavenging enzymes, such as SOD, GPX, and GST in the HC group were significantly lower than those of the NC group, but were significantly higher in the BB and BBM groups, compared with those of the HC group. In addition, serum ALT activity in the HC and BB groups was higher than that of the NC group, but was significantly lower in the BB and BBM groups, compared with that of the HC group. In histopathological findings, hepatic fat accumulation in the HC group was higher than that of the NC group, but was lower in the BBM group, compared with that of the HC and BB groups. In particular, antiobese, hypolipidemic, and antifatty liver effect of black bean powder fermented by *M. pilosus* was specifically higher than that of non-fermented steamed black bean. In conclusion, the con

접수일: 2012년 10월 30일 / 수정일: 2012년 12월 4일 / 채택일: 2012년 12월 28일

*This research was supported by Industrialization Support Program for Bio-technology of Agriculture and Forestry (810007-03-3-SB110), Ministry for Food, Agriculture, Forestry and Fisheries, Republic of Korea.

§To whom correspondence should be addressed.

E-mail: jwsuh@mju.ac.kr

© 2013 The Korean Nutrition Society

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.

stituents of black bean fermented by *Monascus pilosus* have been proven to not only inhibit obesity and hyperlipidemia but also decrease hepatic fat accumulation in high fat diet-induced obese mice. (*Korean J Nutr* 2013; 46(1): 5 ~ 14)

KEY WORDS: antiobese, hypolipidemic, antifatty liver, fermented black bean, *Monascus pilosus*.

서 론

경제성장과 생활의 서구화로 비만, 당뇨, 고혈압, 동맥경화 및 암 등과 같은 다양한 생활습관병이 크게 증가하고 있다. 이들 질환 중 비만은 에너지의 과잉섭취, 유전적 감수성 및 육체 활동의 감소 등에 의한 에너지 불균형으로 체조직에 지방이 과도하게 축적되어 나타나는 현상이며 그 유병율은 주로 선진국에서 꾸준히 증가해왔다.¹⁾ 비만은 그 자체적으로 혹은 다른 질병과 연계되어 심혈관계 질환, 당뇨, 비알코올성 간염, 암, 치매, 골관절염 등과 같은 심각한 질환들을 유발시키는 결정적인 위험요소로 알려져 있으며, 체내에서 산화적 스트레스를 일으킬 뿐만 아니라 지방조직에서 adipocytokine들의 분비 장애를 초래하여 동맥경화와 당뇨 등과 같은 대사증후군과 허혈성 심질환 및 면역결핍 등을 초래하는 것으로 알려져 있다.²⁾ 비만상태에서는 비정상적인 지질대사와 더불어 xanthine oxidase와 같은 활성산소 생성계 효소는 활성화 되는 반면 superoxide dismutase, glutathione S-transferase 등과 같은 소거계 효소의 활성은 억제되어 복합적인 산화적 스트레스를 받게 되고 이로 인한 대사증후군을 야기하게 된다.^{3,4)}

*Monascus*속의 곰팡이는 대사산물로 monacolin K, L, J, X 등의 polyketides⁵⁾와 monascin, ankaflavin, monascorubin, rubropunctatin, monascorubramine 및 rubropunctatamine 등과 같은 색소 및 GABA와 같은 기능성 성분을 생성하며 혈당상승억제,⁶⁾ 혈압조절과 콜레스테롤 생합성 억제⁷⁾ 및 항암효과,⁸⁾ GABA는 항고혈압효과⁹⁾가 있으며, 최근에는 배양 균사체의 ethanol 추출물이 항비만 및 간기능 증진효과를 나타낸다는 보고가 있다.^{10,11)} *Monascus*속 미생물을 고체배양법으로 쌀에 번식시킨 홍국은 건강기능식품으로 홍주, 홍두부, 육류가공 및 음식물의 첨가제 또는 의약품 소재로 널리 활용되고 있으며,¹²⁾ 색소 등 특정 기능성 성분들을 생산할 목적으로 액침배양과 이를 위한 배지조성에 관한 연구,¹³⁾ 기능성 성분의 생성량 조절에 관한 연구 등도 활발하게 이루어지고 있다.¹⁴⁾ 그러나 액침 배양 시에는 mycotoxin의 일종인 citrinin이 생성될 수 있으나, *M. ruber*와 *M. purpureus*와 *M. purpureus* DMS 1279 및 *M. pilosus*의 배양시에는 검출되지 않는다는 보고가 있다.^{10,15)}

한편, 검정콩 (흑태)은 옛날부터 한방에서 오두 (烏頭)라 불리는 약 콩으로 허약체질, 무기력증, 안감의 해소와 각기병 예

방, 약물중독, 식중독 등에도 효과가 있어 사용해 왔으며^{16,17)} 종 피는 혈액을 자양하고, 풍을 소통시키며, 시력증진 및 뇌를 맑게 하고 두통치료에도 효과가 있는 것으로 알려져 있다.

본 연구에서는 항비만 및 간 기능증진 소재를 찾아내기 위한 일련의 연구로 mycotoxin을 생성되지 않음이 확인된 *M. pilosus*¹⁰⁾로 발효시킨 검정콩을 고지방식이에 혼합한 사료로 사육한 마우스의 체중과 간 조직의 지방함량 및 항산화 관련효소의 변동을 조사하였다.

재료 및 방법

재료 및 균주

실험에 사용한 검정콩 (*Glycine max* MERRILL)은 경기도 용인 농업협동조합에서 2010년 11월에 구입하여 polyethylene bag에 넣어 4℃에서 보관하면서 사용하였으며 균주는 한국종균협회에서 분양받은 *Monascus pilosus* KCCM 60084를 사용하였다.

검정콩의 발효

검정콩은 깨끗한 물로 세척한 다음 건풍하여 Hood Mixer (HMF-1710, Hanil, Korea)을 사용하여 콩알 크기의 1/4~1/8 정도로 분쇄한 후 수분함량을 50%로 조정하였다. 2 L들이 polypropylene bag에 450 g씩 넣고 식용 밀기울을 50 g 첨가하여 혼합한 다음 air filter를 부착한 후 121℃에서 90분간 가압 살균하고 무균상으로 옮겨 상온으로 냉각하여 고체배지를 준비하였다. 2% 쌀가루, 3% glucose, 2% peptone, 0.8% KH₂PO₄, 0.05% MgSO₄·7H₂O, 0.2% CH₃COOK, 0.1% NaCl을 함유하는 배지를 사용하여 28℃에서 7일간 배양한 *Monascus pilosus* 배양액을 10% (v/w)되게 접종하여 28℃에서 8일간 배양하였다. 다음에 50℃에서 2일간 건조시켜 수분함량이 약 5%가 되는 검정콩 발효물을 얻고 Hood Mixer (HMF-1710, Hanil, Korea)을 사용하여 100 mesh 입도를 갖는 분말을 제조하였다 (black bean fermented by *M. pilosus*: BBM). 대조구는 검정콩 분말을 121℃에서 120분간 증자한 후 동일조건으로 건조시킨 분말 (black bean: BB)을 사용하였다.

동물실험

실험동물은 4주령의 평균체중 21~24 g의 ICR (Crjori: CD-1), SPF/VAF outbred mice (Orient Ltd., Sungnamsi, Korea)

Table 1. Experimental groups and ingredients of diets

(%)

Ingredients	Experimental groups ¹⁾			
	NC	HC	BB	BBM
Pellet stew (5L79 diets) ²⁾	100	62.5	60.5	60.5
Lard	—	37.5	37.5	37.5
Steamed black bean (SBB)	—	—	2.0	—
SBB fermented by <i>M. pilosus</i>	—	—	—	2.0

1) NC: normal control group, HC: high fat diet control group, BB: 2% steamed black bean powder supplemented high fat diet group, BBM: 2% black bean powder fermented by *M. pilosus* supplemented high fat diet group 2) The diets for animal experiments manufactured in the PMI Nutrition, LLC, Brentwood, MO, USA. Guaranteed analysis: crude protein 18%, crude fat 5%, crude fiber 5%, ash 8%

를 기본사료인 5L79 diets (PMI Nutrition, Brentwood, LA)로 1주일간 사육하여 환경에 적응시킨 다음 실험에 사용하였다. 실험군은 기본사료만을 급여한 정상군 (NC), 기본사료에 lard를 37.5% (w/w) 혼합한 고지방식이 대조군 (HC), 기본사료에 lard 37.5% (w/w)와 증자한 검정콩 분말을 2% 혼합한 식이군 (BB) 및 기본사료에 lard 37.5% (w/w)와 *M. pilosus*로 발효시킨 검정콩 분말을 2% 혼합한 식이군 (BBM)의 4개군 (6마리/군)으로 구분하여 7주간 사육하였다 (Table 1).

실험식은 1주일에 한 번씩 제조하여 4℃에서 보관하면서 매일 신선한 식이를 공급하였다. 사육장은 stainless steel cage를 사용하였고, 온도 및 습도는 $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$, $60 \pm 5\%$ 로 조정하였으며, 명암주기는 12시간 간격으로 설정하고, 물과 사료는 자유 섭취시켰다.

식이 섭취량, 체중 증가량 및 식이효율 측정

체중과 식이섭취량은 전 실험기간 동안 매일 일정시간에 측정하였으며, 식이효율 (feed efficiency ratio, FER)은 1주간의 체중증가량을 1주간의 식이섭취량으로 나눈 값으로 하였다.

혈청 지질함량

혈청중성지질, 총콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤 함량은 kit 시약 (AM 157S-K, AM 202-K, AM 203-K, Asanpharm Co., Korea)으로 측정하였으며, LDL-콜레스테롤함량은 Friedewald 등¹⁸⁾의 방법에 따라 계산하였다. Atherogenic index는 계산식 (total cholesterol-HDL-cholesterol)/HDL-cholesterol에 의하여 산출하였다.

효소활성 측정 시료 준비

7주간 사육한 mouse는 물만 주고 12시간동안 금식시킨 후 ether 마취 하에서 복부 대동맥으로부터 채혈한 다음, 빙냉의 생리식염수로 간을 관류하고 장기를 적출 한 후 습기를 제거하고 무게를 측정하였다. 적출한 간 조직 일정량에 4배량의 빙냉의 0.25 M sucrose 용액을 가하여 마쇄한 균질액을 $10,000 \times g$ 에서 30분간 원심분리한 다음 postmitochondrial fraction (PMF)을 취해 효소 활성도 측정에 이용하였다. 채취한 혈액은

실온에서 응고시킨 다음 4°C , $2,500 \times g$ 에서 20분간 원심분리하여 혈청을 분리한 후 -70°C 에 두면서 분석용 시료로 사용하였다.

혈청 ALT의 활성도 측정

혈청 ALT (alanine aminotransferase) 활성도는 Reitman & Frankel¹⁹⁾의 방법에 따라 조제된 kit시약 (Asan Pharm., Seoul, Korea)을 사용하여 측정하였으며 효소의 활성은 혈청 1 mL당 분당 NADH의 흡광도를 0.001 감소시키는 Karmen unit로 나타내었다.

간조직 GSH와 LPO 함량 측정

간 조직 GSH (glutathione)의 함량은 Ellman²⁰⁾의 방법에 따라 일정량의 간 조직 마쇄균질액에 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid)를 가하여 생성되는 thiophenol의 흡광도를 측정하였으며 간 조직 g당 환원형 GSH μmole 로 나타내었다. LPO (lipid peroxide)의 함량은 Ohkawa 등²¹⁾의 방법에 따라 일정량의 간 조직 마쇄균질액에 thiobarbituric acid (TBA) 용액을 가하여 반응시킨 후 n-butanol을 가하여 이행되는 TBA-reactive substance를 흡광도 532 nm에서 측정한 다음 분자흡광계수 ($\epsilon = 1.5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$)를 이용하여 함량을 산출하였으며 간 조직 g당 malondialdehyde nmole로 나타내었다.

간조직 XOR, SOD, GST 및 GPX 활성도 측정

XOR (xanthine oxidoreductase)활성은 Stirpe & Della Corte²²⁾의 방법에 따라 효소원으로 PMF를 이용하여 total type 활성은 NAD^{+} 의 존재 하에서, O type 활성은 NAD^{+} 를 첨가하지 않은 상태에서 측정하였고, D type의 활성은 total type 활성도에서 O type 활성을 제한 값으로 하였으며, 활성도는 분당 단백질 1 mg이 기질인 xanthine으로부터 생성시킨 uric acid의 량을 nmole (U)로 나타내었다. SOD활성은 Martin 등²³⁾의 방법에 따라 superoxide anion radical에 의해 hematoxylin으로부터 생성되는 hematin을 560 nm에서 측정하였으며 효소원을 가하지 않은 대조구의 흡광도를 50% 억제하는 효소량을 1 unit (U)로 하여 1 mg의 단백질이 hematoxylin의 자동산화를 억제

하는 정도를 U로 나타내었다. GST 활성은 Habig 등²⁴⁾의 방법에 따라 효소에 의해 기질인 1-chloro-2,4-dinitrobenzene과 reduced glutathione이 반응하여 생성되는 thioether의 흡광도를 340 nm에서 측정하여 다음 흡광계수 ($\epsilon = 9.5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$)를 이용하여 활성도를 계산하였으며 분당 단백질 1 mg이 생성시킨 thioether의 nmole로 나타내었다. GPX 활성은 Paglia 등²⁵⁾의 방법에 따라 1 mM EDTA 함유하는 50 mM phosphate buffer (pH 7.0) 용액 일정량에 1 mM sodium azide, 0.2 mM NADPH, 1 mM reduced glutathione, 1 unit glutathione reductase 및 일정량의 효소원과 기질인 0.25 mM hydrogen peroxide를 가해 25°C에서 반응시키는 동안에 생성된 oxidized glutathione을 환원시키는데 소모된 NADPH를 340 nm에서 측정하고 분자흡광계수 ($\epsilon = 6.22 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$)를 이용하여 효소활성을 계산하였다. 효소의 활성도는 1 mg의 단백질이 1분간 산화시킨 NADPH의 함량을 nmole로 나타내었다.

단백질 함량의 측정

간 조직의 단백질 함량은 Lowry 등²⁶⁾의 방법에 따라 bovine serum albumin (BSA)을 표준 용액으로 하여 측정하였다.

간 조직 검사

7주간 사육한 흰쥐 간 조직을 절취하여 10% neutral formalin에 고정시킨 다음, 알코올 탈수, 파라핀 포매하여 microtome으로 4 μm 두께로 잘라 hematoxylin과 eosin으로 염색하여 광학현미경으로 관찰하였다.

통계 처리

데이터는 실험동물 6마리에 대한 평균치와 표준편차로 나타내었다. 유의성 검증은 SPSS ver. 14.0 (SPSS Inc., Chicago, IL) software package program을 이용하여 Duncan's multiple range test를 행하였다.

결 과

체중증가량 및 식이효율

기본사료만 급여한 정상군 (NC), 기본사료에 37.5%의 lard를 혼합한 고지방식이 대조군 (HC), 기본사료에 lard 37.5%와 증자한 검정콩 분말 2% 혼합식이군 (BB) 및 기본사료에 lard 37.5%와 *M. pilosus*로 발효시킨 검정콩 분말 2% 혼합식이군 (BBM)의 4개군으로 나누어 7주간 사육하면서 체중, 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율을 조사한 결과는 Table 2와 같다. 실험식이 개시일의 평균체중은 26.88~29.30 g으로 유의적인 차이를 보이지 않았다. 그러나 7주후의 체중은 NC군에 비하여 BBM군은 21.73% 증가하였으나 HC군은 42.07%가 증가하였으며 BBM군의 대조군인 BB군은 30.84%가 증가하였다. 즉, BB군은 HC군과의 유의적인 차이를 보이지 않는 반면 BBM군에서는 고지방식이 대조군인 HC군에 비하여 14.31%의 체중감소가 있었다. 이러한 결과는 BB 및 HC군보다 식이섭취량이 약 27%나 높은 상황에서 나타난 결과로 뚜렷한 체중감소효과가 있는 것으로 판단된다. 주당 체중증가량에서도 HC군은 3.80 g,

Table 2. Effects of black bean fermented by *M. pilosus* on body weight gain and feed efficiency ratio of mouse fed high fat supplemented diets for 7 weeks

Measurements	Experimental plots ¹⁾			
	NC	HC	BB	BBM
Initial body weight (g)	26.88 \pm 1.93 ^{NS3)}	28.58 \pm 1.39	29.30 \pm 1.84	28.72 \pm 1.76
Final body weight (g)	38.84 \pm 4.51 ^{c4)}	55.18 \pm 3.75 ^a	50.82 \pm 2.83 ^{ab}	47.28 \pm 2.76 ^b
Feed intakes (g/week)	31.63 \pm 1.34 ^b	27.38 \pm 1.95 ^c	27.43 \pm 2.33 ^c	34.97 \pm 1.45 ^a
Weight gain (g/week)	1.71 \pm 0.20 ^d	3.80 \pm 0.26 ^a	3.07 \pm 0.31 ^{bc}	2.65 \pm 0.25 ^c
Water intakes (mL/week)	27.76 \pm 1.22 ^a	22.31 \pm 1.35 ^b	25.04 \pm 2.07 ^{ab}	27.56 \pm 1.85 ^a
FER ²⁾	0.05 \pm 0.02 ^c	0.14 \pm 0.02 ^a	0.11 \pm 0.02 ^{ab}	0.08 \pm 0.02 ^{bc}

1) See table 1 2) Feed efficiency ratio 3) Not significant 4) Values are mean \pm standard deviations (n = 6), different superscripts in the same row indicate significant differences (p < 0.05)

Table 3. Effects of black bean fermented by *M. pilosus* on organs weight and content of fat around epididymis in mouse fed high fat supplemented diets for 7 weeks (% against body weight)

Organs	Experimental groups ¹⁾			
	NC	HC	BB	BBM
Liver	3.88 \pm 0.24 ^{a2)}	3.26 \pm 0.25 ^b	3.54 \pm 0.35 ^{ab}	3.96 \pm 0.36 ^a
Kidney	1.41 \pm 0.18 ^a	1.03 \pm 0.20 ^b	1.22 \pm 0.17 ^{ab}	1.35 \pm 0.13 ^a
Heart	0.48 \pm 0.07 ^{NS3)}	0.39 \pm 0.11	0.43 \pm 0.06	0.49 \pm 0.06
Fat around epididymis	2.39 \pm 0.65 ^c	5.79 \pm 0.53 ^a	4.53 \pm 0.46 ^b	4.32 \pm 0.44 ^b

1) See table 1 2) Values are mean \pm standard deviations (n = 6), different superscripts in the same row indicate significant differences (p < 0.05) 3) Not significant

BB군은 3.07g인데 비하여 BBM군은 NC군의 1.71 g에는 미치지 못하나 2.65 g으로 낮았다.

장기중량

실험식으로 7주간 사육한 mouse의 체중 100 g당의 장기중량과 부고환주변지방의 함량을 조사한 결과는 Table 3과 같다. 간 중량은 NC군이 3.88% 인데 비하여 고지방 식이 대조군인 HC군은 3.26%로 낮았다. 체중감소효과가 낮은 BB군에서도 3.54%로 NC군보다 낮았으나 BBM군에서는 3.96%로 NC군과의 유의적인 차이를 보이지 않았다. 신장에서도 간과 동일한 경향을 나타내었으나 심장에서는 실험군의 유의적인 차이를 보이지 않았다. 부고환주변지방의 함량은 HC군에서는 NC군의 2.5배에 달하였으나 BBM군은 HC보다 25%가 낮았다.

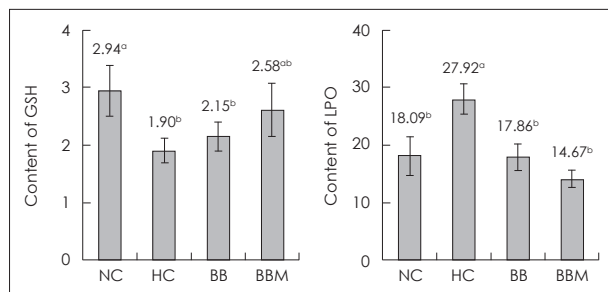


Fig. 1. Effects of black bean fermented by *M. pilosus* on the content of glutathione (GSH) and lipid peroxide (LPO) in the liver of mouse fed high fat diets for 7 weeks. Values are Mean \pm standard deviation (n = 6), different superscripts on the bars indicate significant difference (p < 0.05). Units of GSH and LPO are represented as μ mole/g tissue, respectively.

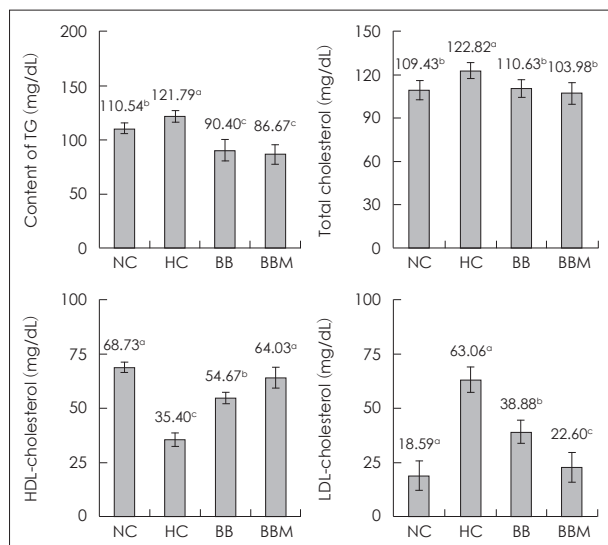


Fig. 2. Effects of black bean fermented by *M. pilosus* on the content of triglyceride (TG), total cholesterol, HDL-cholesterol and LDL-cholesterol in serum of the mouse fed high fat diets for 7 weeks. Values are Mean \pm standard deviation (n = 6), different superscripts on the bars indicate significant difference (p < 0.05).

GSH 및 LPO 함량

실험식으로 7주간 사육한 mouse 간 조직의 GSH 및 LPO의 함량을 측정된 결과는 Fig. 1과 같다. GSH 함량은 HC군이 1.90 μ mole/g-tissue으로 NC군의 3.94 μ mole/g-tissue에 비하여 51.78%가 낮았으며 BBM군은 BB군과의 유의적인 차이는 없으나 20%가 높았으며 HC군에 비하여는 35.78%가 높았다. 반면에 BBM군의 LPO 함량은 HC군의 52.54%, BB군의 82.13%로 낮았으며 NC군보다도 낮은 값을 나타내었다.

혈청지질 함량

실험식으로 7주간 사육한 mouse의 혈청 triglyceride, total cholesterol, HDL-cholesterol 및 LDL-cholesterol 함량을 측정된 결과는 Fig. 2와 같다. Triglyceride 함량은 BBM군에서는 86.67 mg/dL로 BB군의 90.40 mg/dL과 유의적인 차이를 보이지 않았으나 HC군의 120.79 mg/dL에 비하여 28.25%가 낮았으며, total cholesterol 함량도 HC군에 비하여 15.34%가 낮았다. HC군의 HDL-cholesterol 함량은 NC군 (68.73 mg/dL)의 51.5%에 불과하였으나 BBM군의 경우는 BB군보다 유의적으로 높은 수치를 나타내었으며 NC군의 수준을 유지하였다. 반면에 BBM군의 LDL-cholesterol 함량은 22.60 mg/dL로 BB군의 38.88 mg/dL 및 HC군의 63.06 mg/dL에 비하여 각각 41.87% 및 64.16%가 낮았다. 따라서, 이로부터 계산한 동맥경화지수도 HC군과 BB군은 각각 2.47 및 1.02인데 비하여 BBM군은 0.62로 NC군의 0.59에 근접하는 경향을 보아 BBM군의 혈중 지질 개선 효과가 있음을 나타내었다.

간 조직의 XOR 활성

실험식으로 7주간 사육한 mouse 간 조직의 XOR 활성 (U: nmole/mg-protein/min)을 측정된 결과는 Fig. 3과 같다. 고지방 식이에서 체중감소와 혈청지질 개선효과가 가장 높은 BBM군과 NC군의 XOR D type 활성은 각각 0.66 U 및 0.70 U이었으나 BB군과 HC군은 각각 0.58 U 및 0.54 U로 낮았다. 반면,

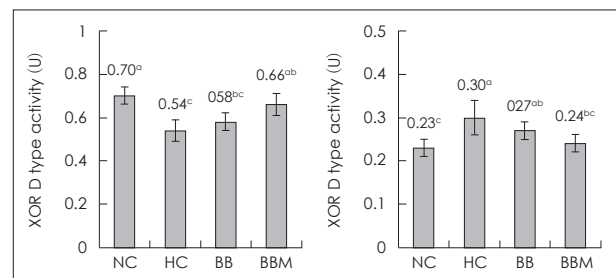


Fig. 3. Effects of black bean fermented by *M. pilosus* on the activities of hepatic XOR D and O type enzyme in the mouse fed high fat diets for 7 weeks. Values are Mean \pm standard deviation (n = 6), different superscripts on the bars indicate significant difference (p < 0.05). Units of XOR D type and O type activity are represented as uric acid nmole/min/mg protein, respectively.

XOR O type의 활성은 BBM군과 NC군에서는 각각 0.24 U 및 0.23 U로 BB군 및 HC군의 0.27 U 및 0.30 U에 비하여 낮았다.

간 조직의 ROS 소거제 효소류의 활성과 혈청 ALT 활성

실험식으로 7주간 사육한 mouse 간 조직의 ROS 소거제 효소류 (SOD, GST 및 GPX)의 활성과 ALT 활성을 측정된 결과

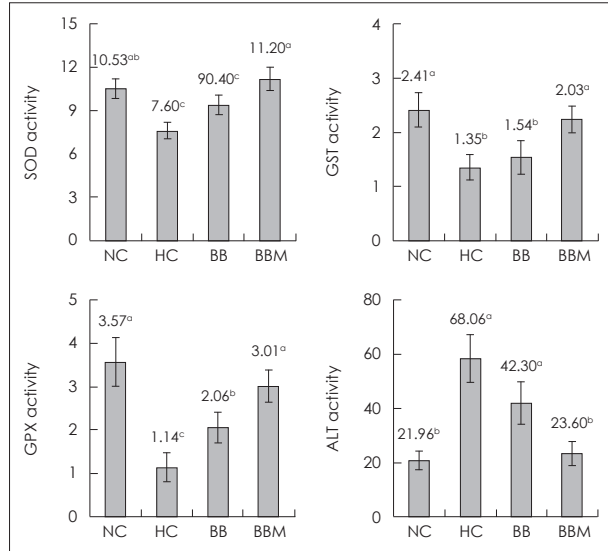


Fig. 4. Effects of black bean fermented by *M. pilosus* on the activities of hepatic SOD, GST, GPX and serum ALT in the mouse fed with high fat diets for 7 weeks. Values are Mean \pm standard deviation ($n = 6$), different superscripts on the bars indicate significant difference ($p < 0.05$). Units of SOD, GST, GPX and ALT are represented as U/mg protein, thioether nmole/min/mg protein, NADPH nmole/min/mg protein and Karmen units, respectively.

는 Fig. 4와 같다. SOD 활성은 BBM군에서는 11.20 U/mg protein으로 BB군에 비하여는 19.14%, HC군에 비하여는 47.36%가 높았으며 NC군과 대등한 값을 나타내었다. GST 활성 (thioether nmole/min/mg protein)도 BBM군에서는 2.03으로 NC군과의 유의적인 차이를 보이지 않았으나 BB군에 비하여는 31.81%, HC군에 비하여는 50.37%가 높았다. BBM군의 GPX의 활성 (NADPH nmole/min/mg protein)은 3.01로 NC군의 3.57보다는 낮으나 상호간의 유의적인 차이를 보이지 않았으며 BB군 및 HC군에 비하여는 각각 46.11% 및 187%가 높았다. 한편, 간장 손상의 지표로 알려져 있는 혈청 ALT 활성 (Karmen unit)은 BBM군이 23.60으로 NC군 수준을 나타내었으며, HC군과 BB군에 비하여 각각 59.76% 및 44.21%가 낮았다.

간 조직의 현미경적 소견

실험식으로 7주간 사육한 mouse의 간장 조직을 검정한 결과는 Fig. 5와 같다. NC군은 정상적인 간 조직구조를 나타낸 반면 HC군은 간장 세포 내 포말형 지방과 매우 큰 소적형 지방이 축적되어 있고, 세포의 괴사와 염증세포의 침윤현상이 관찰되었다. 또한 BB군에서는 소적형 지방축적은 다소 감소되었으나 염증세포와 쿠퍼세포가 활성화된 모습이 보이고, 중심정맥 주변부의 정상적인 간 실질세포는 매우 적은 양상을 보였다. 반면 BBM군은 HC군과 비교해 볼 때 간 실질세포내 지방들은 아주 작은 포말형으로 나타나며 정상적인 간 실질세포의 형태가 잘 나타나 고지방 식이로 인한 간장 세포의 손상을 크게 완화시킨 것으로 나타나고 있다.

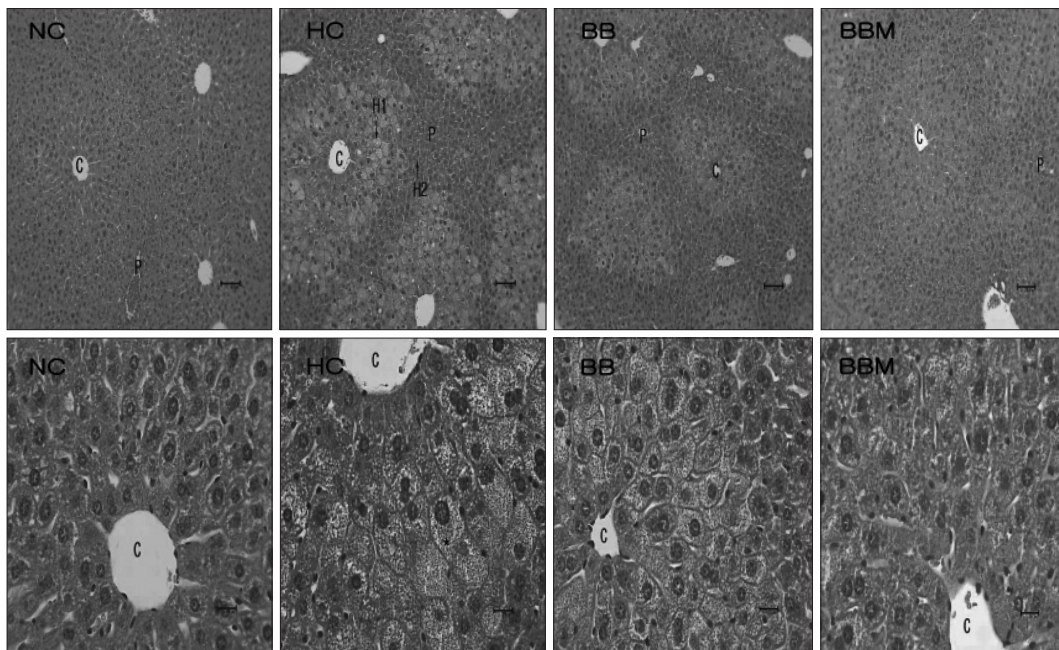


Fig. 5. Light microscopic photographs of liver tissue (bar: 30 μ m) of mouse fed black bean fermented by *M. pilosus* supplemented high fat diets for 7 weeks (HE stain). See Table 1. C; central vein. Arrows (H1 and, H2) in HC: focal infiltration of inflammatory cells.

고 찰

본 연구에서는 항비만 및 간 기능증진 소재를 검색하기 위한 일련의 연구로 mycotoxin을 생성하지 않은 *M. pilosus*로 발효시킨 검정콩을 고지방식이에 혼합한 사료로 7주간 사육한 마우스의 체중과 간 조직의 지방함량 및 항산화 관련 효소의 변화를 조사하였다. 비만유도를 위하여 흔히 사용되어지는 고지방식이를 이용하여 비만을 유도한 고지방식이군에서는 정상대조군에 비해 각각 2배와 2.4배의 현저한 체중과 부고환 주위의 지방 중량이 증가하였으며, 생화학적 검사에서는 glutathione 및 활성산소 제거 효소의 현저한 감소하였고, 간 손상의 정도를 나타내주는 LPO 및 ALT는 유의한 수준으로 증가하였다. 또한 혈청의 TG, 총 콜레스테롤 함량이 증가했으며, 특히, LDL-콜레스테롤의 함량은 NC군에 비하여 3.9배 상승하였다. 반면 HDL-콜레스테롤은 오히려 감소하였다. 이상의 특징들은 이전의 비만 연구들과 일치하는 결과로,²⁷⁾ 고지방식으로 비만 유도가 되었음을 보여주고 있다.

열처리한 검은콩 첨가식이군 (BB) 및 발효시킨 검은콩 첨가식이군 (BBM)에서는 HC군에 비해 고지방식으로 인한 체중 증가가 유의하게 감소하였으며, 감소율은 BBM군이 BB군에 비해 높게 나타났다. 식이섭취량은 NC군에 비해 HC군 및 BB군에서 유의하게 감소하였으나, BBM군에서는 NC군보다 약간 높게 나타났다. 일반적으로 고지방식이에서는 calorie density의 영향으로 식이섭취량이 감소하는 것으로 알려져 있으며,²⁸⁾ 본 실험에서도 이러한 경향이 보였다. BBM군에서 높은 식이섭취량을 보인 현상은 발효에 의하여 beany flavor와 같은 성분들이 감소된 때문이라 사료되며, 식이섭취량이 큼에도 체중의 감소 현상을 보이는 것은 *Monascus*속 미생물을 번식시킨 홍국에서도 체중감소현상이 보고된 바 있으며,²⁹⁾ *Monascus pilosus* 균사체 추출물에서도 관찰¹⁰⁾된 바 있으나 그 정확한 메커니즘에 대하여는 연구를 추진하고 있다.

체중 당 간 및 신장의 중량은 NC군에 비해 HC군에서 유의하게 감소하였으나, BB 및 BBM군에서는 HC군에 비해 증가하였다. 신장의 중량은 모든 실험군간에 유의한 변동은 없었다. 한편, 체중 당 부고환 주위 지방의 중량은 NC군에 비해 HC군에서 약 2.4배 증가하였으나, BB 및 BBM군에서는 HC군에 비해 유의하게 감소하였다. 일반적으로 고지방식이에서는 간 중량이 증가하는 것으로 고지방식으로 인한 당대사의 불균형과 과잉으로 생성되는 glucose flux 및 비정상적인 RNA와 DNA의 합성으로 장기조직이 비대하는 것으로 알려져 있다.³⁰⁾ 본 실험의 결과는 이와는 차이가 있으나, 6~7주간 고지방식이를 행한 mice에서 오히려 체중 당의 간 중량이 감소하였다는 Gre-

goire 등,³¹⁾ Matsuzawa-Nagatan 등³²⁾ 및 Ha & Chae³³⁾의 보고와 일치하였다.

간 조직의 GSH는 생성된 ROS (reactive oxygen species)를 무독화시키며 LPO의 생성을 차단함으로써 GSH의 함량이 감소하면 LPO 함량이 증가한다.³⁴⁾ 특히, GSH는 superoxide radical이 SOD에 의하여 환원되어 생성된 H₂O₂를 H₂O로 전환시키는 항산화물질로 산화적 스트레스에 대한 항산화적 방어계의 기질로 이용된다.³⁵⁾ 반면에 LPO는 세포내의 산화적 스트레스로 인하여 세포막이 손상되었을 때 증가한다.³⁶⁾ 각종 스트레스에 의하여 생성된 ROS는 다카볼포화지방산을 공격하여 LPO를 생성하며 생성된 LPO는 쉽게 분해되어 새로운 ROS를 생성하거나 aldehyde, ketone, alcohol류 등을 생성하여 인체의 각종 세포조직을 손상시키거나 노화를 촉진함으로써 LPO의 함량은 생체막의 손상 정도를 나타내는 지표로 알려져 있다.²⁷⁾ 또, XOR O type 효소에 의하여 생성된 ROS는 지질을 산화시켜 LPO를 생성하며 생성된 LPO는 생체막 손상에 관여한다.²⁷⁾ 간 조직 GSH 함량은 NC군에 비해 HC군에서 35.4% 정도로 현저히 감소하였으나, BB 및 BBM군에서는 HC군에 비해 각각 약 13% 및 36%가 증가하였다. 간 조직 LPO의 함량은 NC군에 비해 HC군에서 54.3% 정도 현저하게 증가하였으나, BB 및 BBM군에서는 NC군 수준 이하로 감소하였다. 따라서 상기의 결과는 BBM은 고지방식이하에서 체중을 감소시키고 동시에 GSH의 함량을 높이고 LPO의 함량을 감소시킴으로써 간 손상을 예방하는 효과가 있는 것으로 사료된다.

혈청 TG의 함량은 NC군에 비해 HC군에서 유의하게 증가하였으나, BB 및 BBM군에서는 NC군 수준이하로 감소하였고, total cholesterol의 함량도 TG와 유사한 경향을 나타내었다. HC군의 LDL-cholesterol의 함량은 NC군에 비해 HC군에서 약 3.39배 증가하였으나, BB 및 BBM군에서는 HC군에 비해 각각 약 38.34% 및 64.1%가 감소하였으며, HDL-cholesterol의 함량은 LDL-cholesterol의 경우와는 반대로 NC군에 비해 HC군에서 48.49%가 감소하였고, BB 및 BBM 군에서는 HC군에 비해 각각 약 54.44% 및 80.88%가 증가하였다. 일반적으로 혈중 chylomicron의 함량은 지방의 섭취량에 비례하며 생성된 chylomicron은 VLDL (very low density lipoprotein)의 농도를 높이고 VLDL의 LDL (low density lipoprotein)로의 전환을 촉진한다. 그러므로 고지방 식이는 동맥경화성 관상동맥질환과 뇌혈관질환의 발생률을 높이며, 동맥경화 및 그 합병증의 유발을 촉진한다.³⁷⁾ 그러나 HDL (high density lipoprotein)은 LDL의 생성을 억제하거나 축적된 cholesterol을 감소시킴으로써 동맥경화의 발생을 억제한다.³⁸⁾ *Monascus*속 미생물의 대사산물인 monacolin K는 혈중의 total cholesterol, LDL-cholesterol 및 triglycerol 농도를 감소시키는 것으로 알려져 있으며,^{39,40)} cho-

lesterol 생합성에 관여하는 HMG-CoA reductase의 활성을 저해한다.⁴¹⁾ Monacolin K는 고콜레스테롤혈증 환자에서 LDL-cholesterol 함량을 우선적으로 낮추며, 정상인 경우는 VLDL과 LDL의 생성을 함께 저하시키는 효과가 있는 것으로 보고되고 있다.⁴²⁾ 따라서 이상의 실험결과는 *Monascus*속 미생물을 검정콩에 배양한 경우도 고지방 식이로 유발될 수 있는 혈청지질의 함량을 개선함으로써 이로부터 유래할 수 있는 동맥경화와 같은 생활습관병을 개선시키는 효과가 있는 것으로 판단된다.

XOR는 hypoxanthine을 xanthine으로 산화시켜 uric acid를 생성하며 pyrimidine, aldehyde류 및 heterocyclic 화합물의 대사에 관여하는 비특이적인 효소⁴³⁾로 정상 생리 상태에서는 NAD⁺를 전자수용체로 이용하는 dehydrogenase type (D type)으로 존재하나 조직 손상 등과 같은 병태생리적 상태⁴⁴⁾에서는 분자상의 O₂를 전자수용체로 이용하는 oxidase type (O type)으로 전환되어 ROS를 생성한다.⁴⁵⁾ 간 조직 XOR의 D type 활성은 NC군에 비해 약 23% 감소하였으나, BB 및 BBM군에서는 HC군에 비해 증가하는 경향을 나타내었고, O type의 활성은 NC군에 비해 HC군에서 50% 증가하였으나, BBM군에서는 HC군에 비해 20% 정도 유의하게 감소하였다. BBM이 고지방 식이로 활성화되는 XOR O type의 활성을 억제시키고 D type의 활성을 높임으로써 ROS의 생성을 감소시키는 것으로 생각된다.

한편, ROS 제거계 효소인 SOD, GPX 및 GST의 활성은 정도의 차이는 있으나 모두 NC군에 비해 HC군에서 현저히 감소되었으며, BB 및 BBM군에서는 HC군에 비해 증가하였고, 그 증가의 정도는 BBM군에서 더 높게 나타났다. 한편 혈청 ALT의 활성은 ROS 제거계 효소들의 변동과는 반대로 HC군에서 현저히 증가하였으나, BBM군에서는 HC군과 BB군에 비해 유의하게 감소하였다. 고지방식이하에서는 XOR O type 효소의 활성이 증가되며 (Fig. 3), 이로 인하여 생성된 ROS는 여러 종류의 질병유발에 관여한다. 이들 ROS는 SOD, GSH, GST, GPX 및 catalase와 같은 단백질 ROS 소거계와 GSH, vitamin C 및 E 등 비단백성 ROS 소거계에 의해 제거된다.⁴⁶⁾ SOD는 ROS 생성계에 의해 생성된 superoxide를 반응성이 낮은 hydrogen peroxide (H₂O₂)로 전환시키며, GPX는 GSH를 이용하여 과산화수소뿐만 아니라 ROS에 의해 생성된 LPO를 무독화 시키며, GST는 LPO와 같은 유기태 hydroperoxide를 독성이 없는 lipid alcohol로 전환시킨다.⁴⁷⁾ GST는 selenium 비의존성 항산화 효소로 친전자성 물질 등에 환원형 GSH를 포함시켜 glutathione thioether (R-S-G)를 형성하는 반응에 관여한다.⁴⁷⁾ 그러나 고지방식이나 고지방-고 콜레스테롤 병행식이에서는 이들 항산화계 효소활성이 급격하게 감소하며 LPO의 함량이 크게 증가한다.⁴⁸⁾ 또한 ALT는 아미노기의 전이에 관여하는 효소로 간 조직

이 손상되면 혈액으로 유출되어 혈청에 그 활성이 증가한다고 알려져 있어 간 손상의 지표로 활용되고 있다.⁴⁹⁾ 일반적으로 고지방 식이는 간장에 다양한 대사성 스트레스를 줌으로써 혈청 ALT의 활성이 증가하는 것으로 알려져 있으며, *Monascus*속 미생물을 번식시킨 홍국은 bromobenzene으로 손상된 rat의 간장을 회복시키는 것으로 보고되고 있다.⁴⁹⁾ 따라서, 이상의 결과는 BBM 첨가 식이는 고지방식에서 생성되는 ROS의 소거계 효소류의 활성을 증가시킴으로써 간 조직의 산화적 손상을 예방하거나 감소시키는 효과가 있음을 나타낸다.

고지방식이 대조군인 HC군은 전형적인 비알코올성 지방간 병변이 유도되었으며, 조직병리학적으로 관찰한 결과, 간장 세포질 내 수많은 소적형태의 지방이 축적되었다. 또한, 간장 소엽 내 세포판과 동양혈관 구조가 붕괴되고 국소적인 염증세포의 침윤이 관찰되었다. 그러나 BBM군에서는 간장 세포 내 축적된 지방의 크기가 작은 포말형으로 변화되고, 이로 인해 간장 세포의 체적 증가가 있음에도 불구하고 간장 세포판과 동양혈관 형성이 간장 소엽단위로 구분되었으며, 중심정맥 주변으로 지방축적이 없는 정상적인 간장 세포영역이 증가되는 것으로 나타났다. 이상의 결과로부터 전체 실험군의 변화소견을 종합해 볼 때, 고지방 식이로 유도된 간장 지방증은 BBM을 첨가한 식이로 해소되는 경향을 보이는 것으로 사료된다.

이상의 실험결과로 보아 *M. pilosus*로 발효시킨 검정콩은 고지방식이에 의해 유발되는 비만과 고지혈증 및 지방간을 예방 혹은 경감시켜줄 수 있을 것으로 생각되며, 이들 결과는 기능성 식품의 개발에 대한 기초자료로 활용할 수 있을 것이다. 그리고 추후 지속적인 연구를 통해 항비만 및 항고지혈 성분을 확인해 고부가의 신제품 개발에 활용할 계획으로 있다.

결 론

고지방식이로 비만을 유도한 마우스 모델을 이용하여 *M. pilosus*로 발효시킨 검정콩의 항비만 효과와 생체내의 항산화 물질과 항산화 효소에 미치는 영향을 조사한 결과, 발효 검정콩의 섭취로 체중 증가 및 고지혈증 등의 병적상태가 완화 되었으며, 혈청 및 간 조직에서의 중성지방을 낮추어 줄 뿐만 아니라 GSH, LPO, XOR, SOD 등 항산화와 관련된 성분의 함량이 항산화력이 증가되는 방향으로 변화됨을 확인하였다. 이러한 항비만 효능은 간조직 지방세포를 현미경으로 관찰한 결과에서도 잘 드러났다. 따라서 *M. pilosus*로 발효시킨 검정콩은 고지방식이에 의한 비만을 완화하고 고지혈증 및 지방간을 예방 혹은 경감시켜 줄 수 있을 뿐만 아니라 비만으로 인하여 손상된 간 조직 항산화계 효소의 활성을 회복시켜줄 수 있을 것으로 사료된다.

Literature cited

- 1) Kopelman PG. Obesity as a medical problem. *Nature* 2000; 404(6778): 635-643
- 2) Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, Nakayama O, Makishima M, Matsuda M, Shimomura I. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest* 2004; 114(12): 1752-1761
- 3) Gwinner W, Scheuer H, Haller H, Brandes RP, Groene HJ. Pivotal role of xanthine oxidase in the initiation of tubulointerstitial renal injury in rats with hyperlipidemia. *Kidney Int* 2006; 69(3): 481-487
- 4) Oben JE, Enyegue DM, Fomekong GI, Soukontoua YB, Agbor GA. The effect of *Cissus quadrangularis* (CQR-300) and a *Cissus* formulation (CORE) on obesity and obesity-induced oxidative stress. *Lipids Health Dis* 2007; 6: 4
- 5) Juzlova P, Martinkova L, Kren V. Secondary metabolites of the fungus *Monascus*: a review. *J Ind Microbiol* 1996; 16(3): 163-170
- 6) Kang MR, Kim JY, Hyun YJ, Kim HJ, Yeo HY, Song YD, Lee JH. The effect of red-yeast-rice supplement on serum lipid profile and glucose control in subjects with impaired fasting glucose or impaired glucose tolerance. *Korean J Nutr* 2008; 41(1): 31-40
- 7) Inoue K, Mukaiyama Y, Tsuji K, Tanabe N, Tarui S, Abe S, Takahashi M. Effect of beni-koji extracts on blood pressure in primary hypertensive volunteers. *Jpn J Nutr* 1995; 53(4): 263-271
- 8) Yasukawa K, Takahashi M, Yamanouchi S, Takido M. Inhibitory effect of oral administration of *Monascus* pigment on tumor promotion in two-stage carcinogenesis in mouse skin. *Oncology* 1996; 53(3): 247-249
- 9) Inoue K, Shirai T, Ochiai H, Kasao M, Hayakawa K, Kimura M, Sansawa H. Blood-pressure-lowering effect of a novel fermented milk containing γ -aminobutyric acid (GABA) in mild hypertensives. *Eur J Clin Nutr* 2003; 57(3): 490-495
- 10) Lee SI, Kim JW, Lee YK, Yang SH, Lee IA, Suh JW, Kim SD. Anti-obesity effect of *Monascus pilosus* mycelial extract in high fat diet induced obese rats. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 2011; 54(3): 197-205
- 11) Lee SI, Kim JW, Lee YK, Yang SH, Lee IA, Suh JW, Kim SD. Protective effect of *Monascus pilosus* mycelial extract on hepatic damage in high-fat diet induced-obese rats. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 2011; 54(3): 206-213
- 12) Kim CS, Rhee SH, Kim I. Studies on production and characteristics of edible red color pigment produced by mold (*Monascus* sp.). *Korean J Food Sci Technol* 1977; 9(4): 277-283
- 13) Broder CU, Koehler PE. Pigments produced by *Monascus purpureus* with regard to quality and quantity. *J Food Sci* 1980; 45(3): 567-569
- 14) Tsukioka M, Hiroi T, Suzuki T, Konno T. Pigment production by mutants of *Monascus anka* (Studies on alcoholic beverage production using genus *Monascus*. Part I. *Nippon Nogeikagaku Kaishi* 1986; 60(6): 451-455
- 15) Blanc PJ, Loret MO, Goma G. Production of citrinin by various species of *Monascus*. *Biotechnol Lett* 1995; 17(3): 291-294
- 16) Liao HF, Chen YJ, Yang YC. A novel polysaccharide of black soybean promotes myelopoiesis and reconstitutes bone marrow after 5-fluorouracil- and irradiation-induced myelosuppression. *Life Sci* 2005; 77(4): 400-413
- 17) Shin HC, Sung HS, Lee YS, Sohn HS. Nutritional adequacy and beneficial effects of soy formula. *Korea Soy Dig* 2001; 18(2): 10-32
- 18) Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 18(6): 499-502
- 19) Reitman S, Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Am J Clin Pathol* 1957; 28(1): 56-63
- 20) Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys* 1959; 82(1): 70-77
- 21) Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95(2): 351-358
- 22) Stirpe F, Della Corte E. The regulation of rat liver xanthine oxidase. Conversion in vitro of the enzyme activity from dehydrogenase (type D) to oxidase (type O). *J Biol Chem* 1969; 244(14): 3855-3863
- 23) Martin JP Jr, Dailey M, Sugarman E. Negative and positive assays of superoxide dismutase based on hematoxylin autooxidation. *Arch Biochem Biophys* 1987; 255(2): 329-336
- 24) Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem* 1974; 249(22): 7130-7139
- 25) Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967; 70(1): 158-169
- 26) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193(1): 265-275
- 27) Kim JY, Nolte LA, Hansen PA, Han DH, Ferguson K, Thompson PA, Holloszy JO. High-fat diet-induced muscle insulin resistance: relationship to visceral fat mass. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2000; 279(6): R2057-R2065
- 28) Lee JM, Cho WK, Park HJ. Effects of chitosan treated with enzymatic methods on glucose and lipid metabolism in rats. *Korean J Nutr* 1998; 31(7): 1112-1120
- 29) Yu MH, Lee HJ, Im HG, Hwang Bo MH, Kim HJ, Lee IS. The effects of Kimchi with *Monascus purpureus* on the body weight gain and lipid metabolism in rats fed high fat diet. *J Life Sci* 2005; 15(4): 536-541
- 30) Wu YG, Xia LL, Lin H, Zhou D, Qian H, Lin ST. Prevention of early liver injury by breviscapine in streptozotocin-induced diabetic rats. *Planta Med* 2007; 73(5): 433-438
- 31) Gregoire FM, Zhang Q, Smith SJ, Tong C, Ross D, Lopez H, West DB. Diet-induced obesity and hepatic gene expression alterations in C57BL/6J and ICAM-1-deficient mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002; 282(3): E703-E713
- 32) Matsuzawa-Nagata N, Takamura T, Ando H, Nakamura S, Kurita S, Misu H, Ota T, Yokoyama M, Honda M, Miyamoto K, Kaneko S. Increased oxidative stress precedes the onset of high-fat diet-induced insulin resistance and obesity. *Metabolism* 2008; 57(8): 1071-1077
- 33) Ha SK, Chae C. Inducible nitric oxide distribution in the fatty liver of a mouse with high fat diet-induced obesity. *Exp Anim* 2010; 59(5): 595-604
- 34) Wang RS, Nakajima T, Honma T. Different change patterns of the isozymes of cytochrome P450 and glutathione S-transferases in chemically induced liver damage in rat. *Ind Health* 1999; 37(4): 440-448
- 35) Kang MH, Lee JH, Lee JS, Kim JH, Chung HK. Effects of acorn supplementation on lipid profiles and antioxidant enzyme activities in high fat diet-induced obese rats. *Korean J Nutr* 2004; 37(3): 169-175
- 36) Eybl V, Kotyzová D, Bludovská M. The effect of curcumin on cadmium-induced oxidative damage and trace elements level in the liver of rats and mice. *Toxicol Lett* 2004; 151(1): 79-85

- 37) Lee IS, Lee S, Lee IZ. Effects of tissue cultured ginseng on blood glucose and lipids in streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J Food Sci Technol* 2003; 35(2): 280-285
- 38) Park BH, Beck KY, Lee SI, Kim SD. Effect of chitosan-ascorbate containing soyfiber beni-koji on body weight and lipid content of obesity rats aid induced from high fat diet. *J East Asian Soc Diet Life* 2006; 16(6): 663-669
- 39) Li C, Zhu Y, Wang Y, Zhu JS, Chang J, Kritchevsky D. *Monascus purpureus*-fermented rice (red yeast rice): a natural food product that lowers blood cholesterol in animal models of hypercholesterolemia. *Nutr Res* 1988; 18(1): 71-81
- 40) Heber D, Yip I, Ashley JM, Elashoff DA, Elashoff RM, Go VL. Cholesterol-lowering effects of a proprietary Chinese red-yeast-rice dietary supplement. *Am J Clin Nutr* 1999; 69(2): 231-236
- 41) Wang J, Lu Z, Chi J, Wang W, Su M, Kou W, Yu P, Yu L, Chen L, Zhu JS, Chang J. Multicenter clinical trial of the serum lipid-lowering effects of a *Monascus purpureus* (Red Yeast) rice preparation from traditional Chinese medicine. *Curr Ther Res Clin Exp* 1997; 58(12): 964-978
- 42) Arad Y, Ramakrishnan R, Ginsberg HN. Lovastatin therapy reduces low density lipoprotein apoB levels in subjects with combined hyperlipidemia by reducing the production of apoB-containing lipoproteins: implications for the pathophysiology of apoB production. *J Lipid Res* 1990; 31(4): 567-582
- 43) Park GY, Lee SJ, Im JG. Effects of green tea catechin on cytochrome p450, xanthine oxidase activities in liver and liver damage in streptozotocin induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 1997; 26(5): 901-907
- 44) Ham YK, Kim SW. Protective effects of plant extracts on the hepatocytes of rat treated with carbon tetrachloride. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2004; 33(8): 1246-1251
- 45) Hashim MS, Lincy S, Remya V, Teena M, Anila L. Effect of polyphenolic compounds from *Coriandrum sativum* on H₂O₂-induced oxidative stress in human lymphocytes. *Food Chem* 2005; 92(4): 653-660
- 46) Flohe L, Günzler WA, Schock HH. Glutathione peroxidase: a selenoenzyme. *FEBS Lett* 1973; 32(1): 132-134
- 47) Lee J, Jeong JY, Cho YS, Park SK, Kim K, Kim MJ, Lee MK. Effect of young *Phragmites communis* leaves powder on lipid metabolism and erythrocyte antioxidant enzyme activities in high-fat diet fed mice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2010; 39(5): 677-683
- 48) Song WY, Sung BH, Kang SK, Choi JH. Effect of water extracts from *Phellinus linteus* on lipid composition and antioxidative system in rats fed high fat high cholesterol diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2010; 39(1): 71-77
- 49) Zhang ZL, Wen QZ, Liu CX. Hepatoprotective effects of *Astragalus* root. *J Ethnopharmacol* 1990; 30(2): 145-149