Dietary Effects of Post-fermented Green Tea by *Monascus pilosus* on the Body Weight, Serum Lipid Profiles and the Activities of Hepatic Antioxidative Enzymes in Mouse Fed a High Fat Diet

Sang-Il Lee · Ye-Kyung Lee · Soon-Dong Kim · Seung Hwan Yang · Joo-Won Suh

*Monascus pilosus*로 발효시킨 후발효 녹차가 고지방식이 마우스의 체중과 혈청 지방함량 및 간 조직 항산화계 효소활성에 미치는 영향

이상일 · 이예경 · 김순동 · 양승환 · 서주원

Received: 14 January 2012 / Accepted: 12 April 2012 / Published Online: 30 June 2012
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2012

Abstract The anti-obese, hypolipidemic and hepatoprotective effects of post-fermented green tea by *Monascus pilosus* was tested with mice fed with high-fat diet for 7 weeks. The body weight gain and feed efficiency ratio (FER) in normal control group (NC), CHA (2% non-fermented green tea powder supplemented high-fat diet group) and mCHA (2% green tea powder post-fermented by *M. pilosus* supplemented high fat diet group) groups were significantly lower than those of high fat diet control group (HC). Epididymal fat weight in mCHA and NC were significantly lower than HC. The hepatic lipid peroxide was dramatically higher in HC than that of NC and was significantly lower in CHA and mCHA. In addition, dehydrogenase type activity of xanthine oxidoreductase in HC was lower than that of NC, but significantly higher than CHA and mCHA. In histopathological findings, hepatic fat accumulation in HC was higher than that of NC, CHA and mCHA. Antiobese, hypolipidemic and antifatty liver effect of green tea powder post-

fermented by *M. pilosus* was slightly higher than that of non-fermented green tea. In conclusion, the constituents of green tea fermented by *M. pilosus* has been proven to not only inhibit obesity and hyperlipidemia but also decrease the hepatic fat accumulation in high fat diet-induced obese mice.

Keywords anti-fatty liver · antiobese · antioxidative enzymes · hypolipidemic · *Monascus pilosus* · post-fermented tea

서 론

차는 전 세계인이 즐겨 마시는 가장 보편적인 음료로 비발효차, 반발효차, 발효차, 후발효차 등으로 분류하고 있으며, 전 세계적으로 녹차(비발효차) 20%, 오롱차(반발효차) 2%, 흑차(발효차) 78%가 소비되고 있다(Bode와 Dong, 2003). 우리나라에서는 신라 선덕여왕(AD 632~647) 때 중국 당나라에서 차를 가져와 마셨으며, AD 828년에 지리산에 차를 재배하였다(Lee, 1984; Kim, 1989). 흑차의 발효는 phytoenzyme에 의한 것과 외부의 효소나 미생물을 사용하여 발효시키는 것으로 나누며 홍차는 전자에 중국 운남성의 보이차는 후자에 포함된다. 흑차는 주로 미국, 영국 및 유럽국가에서 애용하고 있으며 녹차는 아시아 북아프리카 국가들에서 그리고 오롱차는 중국과 타이완에서 많이 이용하고 하고 있다(Trevisanato와 Kim, 2000). 녹차의 주요 기능성 성분인 catechin류는 발효과정 중에 theaflavins (TF)과 thearubigins (TG)로 전환된다. Catechin류에는 (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG)의 함량이 가장 높고, 다음으로 (-)-epigallocatechin

J. W. Suh and S. H. Yang contributed equally.

Y.-K. Lee · S.-D. Kim · S. H. Yang (✉) · J.-W. Suh (✉)
Division of Bioscience and Bioinformatics, College of Natural Science,
Myongji University, Cheoin-gu, Yongin, Gyeonggi-Do 449-728, Republic
of Korea
E-mail: jwsuh@mju.ac.kr (J.-W. Suh)
E-mail: ymichigan@mju.ac.kr (S. H. Yang)

S.-I. Lee
Department of Food, Nutrition and Cookery, Keimyung College, Daegu
704-703, Republic of Korea

(EGC)과 (-)-epicatechin (EC)이 함유되어 있다. 또한 흑차의 polyphenol로 알려진 theaflavins로는 theaflavin-3-gallate와 theaflavin-3,3'-digallate가 있으며 흑차의 색상과 맛에 영향을 주는 물질로 알려져 있다(Yang 등, 2000). 녹차나 흑차에 함유된 이러한 성분들은 모두 강한 항산화능을 지니므로써 체내 산화적 스트레스의 해소를 통하여 각종 생활 습관병의 예방과 치유에 관여한다(Lin 등, 1999).

흑차는 총 항산화능에서는 녹차에 비하여 낮으나(Han 등, 2010), 발효 중에 새로이 생성된 TF 및 TG가 H_2O_2 와 t-butylhydroperoxide로 유도한 세포독성과 산화적 스트레스를 감소시키며(Feng 등, 2002), 항돌연변이 효과가 녹차의 EGCG에 비하여 현저하게 높은 것으로 알려져 있다(Chen 등, 1999; Liang 등, 1999).

*Monascus*속 미생물은 항균 및 항암효과(Birch 등, 1962)가 있는 rubropunctin 및 monascin과 같은 성분을 생성(Pyo와 Lee, 2007)할 뿐만 아니라 체내 콜레스테롤의 생합성을 저해하는 monacolin K, mevinolin, lovastatin과 같은 statin계 성분을 생성한다(Endo, 1980). 또한, *Monascus*속 미생물의 균체는 항비만 효과가 알려져 있으며(Lee 등, 2011a), 비만에서 오는 간 손상을 해소시키는 것으로 보고되어 있다(Lee 등, 2011b).

본 연구에서는 발효차의 품질개선과 기능성 부여를 위한 일련의 연구로 *M. pilosus*로 발효시킨 후발효 녹차가 고지방식이 마우스의 체중과 혈청 지방함량 및 간 조직 항산화계 효소활성에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

재료 및 균주. 실험에 사용한 녹차(*Aspalathus linearis*)는 2011년 4월에 경상남도 하동군에서 첫물(1지2엽)을 채취하여 사용하였으며, 균주는 한국중균협회에서 분양 받은 *M. pilosus* KCCM 60084를 사용하였다.

차의 발효. 차의 발효는 재료 및 방법에서와 같이 채취한 녹차 잎을 하루 동안 위조시킨 다음 250°C의 덩음 솥에 넣어 덩음과 유념을 5회 반복하여 덩음차(CHA)를 조제하였다. 이 덩음차에 증류수를 가하여 37.5% 수분함량으로 조정 후 2L 들이 polypropylene bag에 500 g씩 넣고 air filter를 부착한 후 121°C에서 90분간 가압 살균하였다. 살균한 후는 무균상으로 옮겨 실온이 되도록 식히고, 미리 준비한 *M. pilosus* 배양액 50 mL씩을 혼합하여 30°C의 incubator에서 15일간 배양하여 발효차(mCHA)를 제조하였다. 발효가 끝난 차는 40°C에서 최종 수분함량이 2% 내외가 되도록 충분히 건조시켜 실험에 사용하였다.

M. pilosus 배양액은 5% glucose, 2% peptone, 0.8% KH_2PO_4 , 0.05% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.2% CH_3COOK , 0.1% NaCl를 함유하는 액에 균주를 접종하여 150 rpm의 진탕 배양기에서 10일간 배양하여 사용하였다.

동물실험. 실험동물은 4주령의 평균체중 21 ± 5 g의 ICR (Crljori: CD-1), SPF/VAF outbred mice (Orient Ltd, Korea)를 기본사료인 5L79 diets (PMI Nutrition, USA)로 1주일간 사육하여 환경에 적응시킨 다음 실험에 사용하였다. 실험군은 기본사료만을 급여한 정상군(normal control group, NC), 기본사료에 lard를 37.5% (w/w) 혼합한 고지방식이 대조군(high fat diet control group, HC), 기본사료에 lard 37.5% (w/w)와 비발효 녹차를 2% 혼합한 식이군(CHA) 및 기본사료에 lard 37.5%

Table 1 Experimental plots and diet compositions (%)

Ingredients	Experimental plots ¹⁾			
	NC	HC	CHA	mCHA
Pellet stew (5L79 diets) ²⁾	100	62.5	60.5	60.5
Lard	-	37.5	37.5	37.5
Unfermented green tea powder	-	-	2.0	-
Post-fermented green tea powder	-	-	-	2.0

¹⁾Abbreviations: NC; normal control group, HC; high fat control group, CHA; unfermented green tea powder 2% supplemented high fat diet group, mCHA; post-fermented green tea powder by *M. pilosus* 2% supplemented high fat diet group.

²⁾The diets for animal experiments manufactured in the PMI Nutrition, USA. Guaranteed analysis: crude protein 18%, crude fat 5%, crude fiber 5%, ash 8%.

(w/w)와 *M. pilosus*로 후발효시킨 발효차를 2% 혼합한 식이군(mCHA)의 4개군(6마리/군)으로 구분하여 7주간 사육하였다(Table 1).

실험식은 1주일에 한 번씩 제조하여 4°C에서 보관하면서 매일 신선한 식이를 공급하였다. 사육장은 stainless steel cage를 사용하였고, 온도 및 습도는 $23 \pm 2^\circ C$, $60 \pm 5\%$ 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 high-density lipoprotein (HDL)-콜레스테롤 함량은 kit 시약(AM 157S-K, AM 202-K, AM 203-K, Asanpharm Co., Korea)으로 측정하였으며, low-density lipoprotein (LDL)-콜레스테롤 함량은 Friedewald 등(1972)의 방법에 따라 계산하였다.

Atherogenic index (AI)는 계산식(total cholesterol HDL-cholesterol)/HDL-cholesterol에 의하여 산출하였다.

효소활성 측정 시료 준비. 7주간 사육한 mouse는 물만 주고 12시간 동안 금식시킨 후 ether 마취하에서 복부 대동맥으로부터 채혈한 다음, 병냉의 생리식염수로 간을 관류하고 장기를 적출한 후 습기를 제거하고 무게를 측정하였다. 적출한 간 조직 일정량에 4배 량의 병냉의 0.25 M sucrose 용액을 가하여 미세한 균질액을 10,000×g에서 30분간 원심분리한 다음 post-mitochondrial fraction을 취해 효소 활성도 측정에 이용하였다. 채취한 혈액은 실온에서 응고시킨 다음 4, 2,500×g에서 20분간 원심분리 하여 혈청을 분리한 후 70°C에 두면서 분석용 시료로 사용하였다.

혈청 ALT 활성의 측정. 혈청 alanine aminotransferase (ALT) 활성은 Reitman과 Franke 등(1979)의 방법에 따라 조제된 kit시약(Asan Pharm., Korea)을 사용하여 측정하였으며 효소의 활성은 혈청 1 mL당 분당 NADH의 흡광도를 0.001 감소시키는 Karmen unit로 나타내었다.

간 조직 GSH 및 LPO의 함량 측정. 간 조직 glutathione (GSH)의 함량은 Ellman (1959)의 방법에 따라 일정량의 간 조직 마쇄균질액에 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid)를 가하여 생성되는 thiophenol의 흡광도를 측정하였으며 간 조직 g당 환원형 GSH μ mol로 나타내었다.

Lipid peroxide (LPO)의 함량은 Ohkawa 등(1979)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 분자흡광 계수($\epsilon = 1.5 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)를 이용하여 함량을 산출하였으며 간 조직 g 당 malondialdehyde nmole로 나타내었다.

간 조직 xanthine oxidoreductase (XOR), superoxide dismutase (SOD), glutathione S-transferase (GST) 및 glutathione peroxidase (GPX) 활성 측정. XOR 활성은 Stirpe와 Della Corte (1969)의 방법에 따라 total type 활성은 NAD^+ 의 존재 하에서, O type 활성은 NAD^+ 를 첨가하지 않은 상태에서 측정하였으며 D type 활성은 total type 활성에서 O type 활성을 제한 값으로 산출하였다. 활성도는 분당 단백 1 mg이 기질인 xanthine 으로부터 생성되는 uric acid의 량을 nmole로 나타내었다.

SOD 활성은 Martin 등(1987)의 방법에 따라 superoxide anion radical에 의해 hematoxylin으로부터 생성되는 hematin을 560 nm에서 측정하였으며 효소원을 가하지 않은 대조군의 흡광도를 50% 억제하는 효소량을 1 unit (U)로 하여 1 mg의 단백 질이 hematoxylin의 자동산화에 억제하는 정도를 U로 나타내었다. GST 활성은 Habig 등(1974)의 방법에 따라 효소에 의해 기질인 1-chloro-2,4-dinitrobenzene과 reduced glutathione이 반응 하여 생성되는 thioether의 흡광도를 340 nm에서 측정한 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 Paglia와 Valentine (1967)의 방법에 따라 1 mM EDTA 함유하는 50 mM phosphate buffer (pH 7.0) 용액 일정 량에 1 mM sodium azide, 0.2 mM NADPH, 1 mM reduced glutathione, 1 U glutathione reductase 및 일정량의 효소원과 기질 인 0.25 mM hydrogen peroxide를 가해 25°C에서 반응시키는 동 안에 생성된 oxidized glutathione을 환원시키는데 소모된 NADPH 를 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 측정. 간 조직의 단백질 함량은 Lowry 등(1951)의 방법 에 따라 bovine serum albumin (BSA)을 표준용액으로 하여 측정하였다.

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

통계 처리. 데이터는 실험동물 6마리에 대한 평균치와 표준편

차로 나타내었다. 유의성 검증은 SPSS ver. 14.0 (SPSS Inc., USA) software package program을 이용하여 Duncan's multiple range test를 행하였다.

결과 및 고찰

체중변화. 정상군(NC), 고지방 식이 대조군(HC), 녹차분말 2% 를 혼합한 고지방식이군(CHA) 및 *M. pilosus*로 발효시킨 후발 효 녹차 분말을 2% 혼합한 고지방식이군(mCHA)의 4개군으로 구분하여 7주간 사육하면서 조사한 누적체중증가량과 주당 체 중증가량 및 식이섭취량을 조사한 결과는 Table 2와 같다.

실험식이 개시일의 평균체중은 26.88~28.65 g으로 유의적인 차이를 보이지 않았으나 7주후의 체중은 NC군의 증가율에 비 하여 HC군의 증가율은 48.68%가 높았으며, CHA는 26.04%, mCHA는 21.10%가 증가하였다(Table 2). 즉, CHA와 mCHA군 은 상호간의 유의적인 차이는 없으나 HC군에 비하여 각각 24.15 및 29.66%의 체중감소가 있었다(Table 2). 한편, 칼로리 섭취량은 NC군에 비해 HC군에서 33.02%가 증가하였으며, 또 한 CHA와 mCHA군에서는 HC군에 비해 각각 11.70 및 11.52%가 증가하였다(Table 2). 그리고 물 섭취량은 NC군에 비 해 HC군에서 19.63%가 감소하였으나, CHA군에서는 HC군에 비해 증가하는 경향을 나타내었으며, mCHA군에서는 대조군 수 준으로 회복되었다(Table 2).

이상의 결과에서 보이듯이 CHA 및 mCHA군에서 식이섭취 량과 칼로리 섭취량이 HC군에 비해 유의하게 증가하였으나 증 체량은 감소하는 것으로 보아 CHA 및 mCHA군 모두 뚜렷한 체중조절효과가 있는 것으로 판단된다. 또한 CHA 및 mCHA 군의 식이효율도 NC군보다는 높으나 HC군에 비하여는 유의적 으로 낮았다.

고지방식이에서 식이섭취량이 감소하는 현상은 Lee 등(1998) 의 결과와 일치하며 CHA군에서 체중감소효과를 보이는 현상 은 녹차에 함유된 polyphenol성분에 기인된 것으로 사료되며 mCHA에서의 효과는 polyphenol 성분과 함께 *Monascus*속 미 생물이 발효 중에 생성된 생성물(Yu 등, 2005) 또는 균체가 가 지는 효과(Lee 등, 2011a)에 기인된 것이라 생각된다.

장기중량과 부고환주변지방의 함량. 7주간 사육한 실험동물의 장기중량과 부고환주변지방의 함량을 조사한 결과는 Table 3과 같다. 체중에 대한 간 중량은 NC군 3.88%, HC군 3.26%, CHA 3.39%, mCHA 3.47%로 HC군에 가장 낮았으며 체중 증

Table 2 Weight gain and feed efficiency ratio of mouse fed with high fat diets for 7 weeks

Measurements	Experimental plots ¹⁾			
	NC	HC	CHA	mCHA
Initial weight (g)	26.88±1.93 ^{NS,3)}	28.58±1.39	28.65±1.40	28.52±1.34
Final weight (g)	38.88±4.51 ^c	55.25±3.75 ^a	48.90±4.08 ^{ab}	47.27±4.32 ^{bc}
Weight gain (g/week)	1.71±0.20 ^c	3.81±0.26 ^a	2.89±0.25 ^b	2.68±0.27 ^b
Water intakes (mL/week)	27.76±1.22 ^a	22.31±1.35 ^c	24.65±1.55 ^{bc}	27.34±1.48 ^{ab}
Feed intakes (g/week)	31.63±0.95 ^a	27.38±0.99 ^b	30.20±1.18 ^a	30.17±0.98 ^a
Calory intakes (kcal/week)	117.97±3.54 ^c	156.92±5.27 ^b	175.28±6.85 ^a	174.99±5.68 ^a
FER ²⁾	0.05±0.01 ^c	0.14±0.01 ^a	0.10±0.01 ^b	0.09±0.01 ^b

¹⁾See Table 1.

²⁾Feed efficiency ratio.

³⁾NS: Not significant. Values are mean $\pm$ SD, different superscripts in the same row indicate (a-c) significant differences ($p < 0.05$).

Table 3 Effects of unfermented and post-fermented green tea by *M. pilosus* on the weight of organs and content of fat around epididymal in mouse fed height fat diets for 7 weeks (% against body weight)

Organs	Experimental groups ¹⁾			
	NC	HC	CHA	mCHA
Liver	3.88±0.24 ^{a,2)}	3.26±0.25 ^b	3.39±0.20 ^b	3.47±0.19 ^b
Kidney	1.41±0.18 ^a	1.03±0.20 ^b	1.14±0.20 ^{ab}	1.17±0.19 ^{ab}
Heart	0.48±0.07 ^{NS,3)}	0.39±0.11	0.40±0.09	0.43±0.08
Fat around epididymal	2.39±0.65 ^c	5.79±0.53 ^a	5.24±0.96 ^{ab}	4.73±0.56 ^b

¹⁾See Table 1.²⁾Values are mean ± SD (n=6), different superscripts in the same row indicate (a-c) significant difference ($p < 0.05$).³⁾Not significant.

가율이 낮을수록 높아지는 경향을 보였으며 신장과 심장에서도 간에서와 동일한 경향을 나타내었으나 심장에서는 유의적인 차이는 보이지 않았다(Table 3). 특히 간에서 나타난 이러한 현상은 고지방식이에서의 간 비대현상이 체중 증가율이 미치지 못하기 때문에 나타난 현상으로 Matsuzawa-Nagatan 등(2008) 및 Ha와 Chae(2010)의 보고와 일치하였다. 고지방식이에서는 불균형한 당대사와 이로인해 생성된 과잉의 glucose flux 및 비정상적인 RNA와 DNA의 합성 등으로 장기조직이 비대해지는 것으로 알려져 있다(Wu 등, 2007).

부고환주변지방의 함량은 HC군에서는 NC군의 2.42배에 달하였으나 CHA군과 mCHA군에서는 HC군 보다 각각 9.50 및 18.31%가 낮았다(Table 3).

혈청지질 함량. 7주간 사육한 실험동물의 혈청 triglyceride, total cholesterol, HDL-cholesterol 및 LDL-cholesterol 함량을 측정된 결과는 Fig. 2과 같다. Triglyceride 함량은 CHA군과 mCHA군 간에는 유의적인 차이를 보이지 않았으나 mCHA군은 HC군에 비하여 유의적으로 낮은 함량을 나타내었으며 NC군과 비슷한 값을 나타내었다(Fig. 1A).

Total cholesterol 함량도 triglyceride 함량과 유사한 경향으로 CHA군은 HC군과의 유의차를 보이지 않으나 mCHA는 HC군에 비하여 12.48%가 낮았으며 NC군의 수준을 나타내었다(Fig. 1B).

HDL-cholesterol 함량은 HC군이 35.40 mg/dL로 NC군 68.73 mg/dL의 51.5%에 불과하였으나 CHA군과 mCHA군은 각각 69.58 및 77.64 mg/dL로 HC군에 비하여 96.55 및 119.32%가 높았다(Fig. 1C). 그러나 LDL-cholesterol 함량은 CHA군 및 mCHA군이 각각 24.04 및 10.22 mg/dL로 NC군의 17.59 mg/dL과 유사한 값을 나타내었으며 HC군의 60.00 mg/dL보다 현저히 낮은 값을 나타내었다(Fig. 1D). 동맥경화지수는 HC군이 2.47을 나타낸 반면, CHA군 및 mCHA군은 각각 0.67 및 0.41을 나타내어 NC군과 유의적인 차이를 보이지 않았다(Fig. 1E). 일반적으로 고지방식이에서는 혈중 chylomicron의 함량이 증가하여 very low density lipoprotein (VLDL)과 LDL의 함량 높다(Wilson 등, 1984). 따라서 고지방 식이는 동맥경화성 관상동맥질환과 뇌혈관질환의 발생률을 높임(Lee 등, 2003)과 동시에 합병증의 유발을 촉진(Gordon 등, 1981)하나 HDL은 LDL의 생성을 억제 또는 cholesterol 함량을 감소시킴으로써 동맥경화를 억제한다(Park 등, 2006).

녹차에서 혈청지질의 개선효과를 보이는 것은 녹차에 함유된 다양한 항산화 물질의 효과라 사료되며 *Monascus*속 미생물에 의한 후발효 녹차에서 나타난 상기의 효과는 녹차에 함유된 성분들과 함께 발효 중에 생성된 monacolin K를 비롯한 성분

들에 의한 영향이라 사료된다. Heber 등(1999)은 *Monascus*속 미생물의 대사산물인 monacolin K가 혈중 total cholesterol, LDL-cholesterol 및 triglycerol 농도를 감소시키는 효과가 있다고 하였으며, Arad 등(1990)은 고콜레스테롤혈증 환자에서는 LDL-cholesterol함량을 우선적으로 낮추나 정상인에서는 VLDL과 LDL의 생성을 동시에 낮춘다고 하였다.

이상의 실험결과 *Monascus*속 미생물로 발효시킨 후발효 녹차는 고지방 식이로 유발될 수 있는 혈청지질의 함량을 개선함과 동시에 동맥경화와 같은 생활습관병을 개선시키는 효과가 있는 것으로 사료된다.

간 조직의 GSH 및 LPO 함량. 7주간 사육한 실험동물의 간 조직 GSH 및 LPO의 함량을 측정된 결과는 Fig. 3와 같다. GSH 함량($\mu\text{mole/g tissue}$)은 HC군이 1.90으로 NC군의 2.94에 비하여 35.37%가 낮았으며 CHA군과 mCHA군은 각각 2.09 및 2.35로 유의적인 차이는 없으나 mCHA군에서 12.44%가 높았으며 HC군에 비하여는 23.68%가 높았다(Fig. 2A). LPO 함량은 NC군에 비하여 HC군이 54.34%가 높았으나 CHA군과 mCHA군은 HC군에 비하여 43.70 및 45.38%가 낮았으며 NC군과의 유의적인 차이를 보이지 않았다(Fig. 2B).

간 조직 GSH는 생성된 체내에서 생성된 활성산소종(ROS)을 소거시키는데 관여하며 LPO의 생성을 막음으로써 GSH 함량이 감소하면 LPO 함량이 증가한다(Wang 등, 2000). 특히, GSH는 체내에서 생성된 H_2O_2 를 소거하는 항산화제로 산화적 스트레스에 대한 방어계의 기질로 이용된다(Kang 등, 2004). 그러나 LPO는 산화적 스트레스에 의해 세포막이 손상되었을 때 증가한다(Vladislav 등, 2004).

ROS는 다불포화지방산에 작용하여 LPO를 생성하며 생성된 LPO는 분해되어 새로운 ROS를 생성하거나 aldehyde, ketone, alcohol류 등을 생성하여 체내 세포조직을 손상케 하거나 노화에 관여함으로 LPO는 생체막의 손상 정도를 나타내는 지표로 알려져 있으며, xanthine oxidoreductase (XOD) O type 효소가 생성한 ROS에 의하여 전환된 LPO는 생체막 손상에 관여한다(Ohkawa 등, 1979).

따라서 녹차 또는 *Monascus*속 미생물로 발효시킨 후발효 녹차는 고지방식이에서 체중을 감소시키는 효과를 나타내며 동시에 GSH의 함량을 높이고 LPO의 함량을 감소시킴으로써 간 손상을 예방하는 효과가 있는 것으로 사료된다.

간 조직의 XOR의 활성. 7주간 사육한 실험동물의 간 조직 XOD D type 및 O type 효소의 활성(nmole/mg protein/ min: U)을 측정된 결과는 Fig. 4와 같다. CHA군과 mCHA군의 D type 효소활성은 HC군에 비하여 각각 18.52 및 33.33%가 감소하였으나 mCHA군은 NC군과의 차이를 보이지 않았다(Fig.

Fig. 1 Effects of unfermented and post-fermented green tea by *M. pilosus* on the content of triglyceride (TG) (A), total cholesterol (B), HDL-cholesterol (C) and LDL-cholesterol (D) in serum, and atherogenic index (E) of the mouse fed high fat diets for 7 weeks. Values are mean $\pm$ SD (n=6), different superscripts on the bars indicate significant difference ($p < 0.05$).

3A). 그러나 O type 효소활성은 HC군이 NC군에 비하여 30.43%가 높았으며 CHA군과 mCHA군에서는 HC군에 비하여

16.67 및 33.33%가 높았다(Fig. 3B).

XOD는 hypoxanthine을 산화하여 uric acid를 생성하며

Fig. 2 Effects of unfermented and post-fermented green tea by *M. pilosus* on the content of glutathione (GSH) (A) and lipid peroxide (LPO) (B) in 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 ($p < 0.05$).

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

pyrimidine, aldehyde류 및 heterocyclic 화합물의 대사에 관여하는 비특이적인 효소(Park 등, 1997)로 정상적인 생리적 상태에서는 NAD^+ 를 전자수용체로 하는 dehydrogenase type (D type)으로 작용하나 조직이 손상되는 등의 병태적 생리상태(Oei 등, 1982; Urano 등, 1991; Ham와 Kim 2004)에서는 분자상의 O_2 를 전자수용체로 이용하는 oxidase type (O type)으로 작용함으로써 ROS를 생성한다(Hashim 등, 2005).

따라서 상기의 결과는 mCHA가 고지방식으로 활성화되는 XOR O type 효소의 활성을 억제하고 D type 효소의 활성을 높임으로써 ROS의 생성을 감소시키는 것으로 생각된다.

간 조직 ROS 소거계 효소활성과 혈청 ALT 활성. 7주간 사육한 실험동물 간 조직의 SOD, GST 및 GPX 활성과 ALT 활성을 측정한 결과는 Fig. 5와 같다. SOD 활성(U/mg protein)은 HC군에서보다 CHA군과 mCHA군에서 다소 높은 경향을 보였으나 유의적인 차이는 없었다(Fig. 4A). 그러나 mCHA군의 GST활성(thioether nmole/min/mg protein)은 HC군과 유의적인 차이를 나타내었으며(Fig. 4B) 특히, mCHA군의 GPX의 활성

(NADPH nmole/min/mg protein)은 HC군의 2.55배, CHA군의 1.5배로 높았으며 NC군과 대등하였다(Fig. 4C). 한편, 간 손상 정도의 지표로 알려진 ALT 활성(Karment units)은 CHA군과 mCHA군에서 각각 29.90 및 22.10으로 NC군의 21.96과 유의적인 차이를 보이지 않았으며 HC군의 58.65에 비하여 현저하게 낮은 수치를 나타내었다(Fig. 4D).

XOR O type 효소에 의하여 생성되는 ROS는 체내에서 산화적 스트레스를 동반함과 동시에 각종 질병유발에 관여하며 고지방식이 이 효소의 활성이 촉진된다(Fig. 3B). 그러나 생성된 ROS는 SOD, GST, GPX 및 catalase와 같은 소거계 효소와 GSH, vitamin C 및 E 등과 같은 물질들에 의하여 제거된다(Flohe 등, 1973).

일반적으로 SOD는 superoxide를 독성이 낮은 hydrogen peroxide (H_2O_2)로의 전환하며(Im 등, 1985), GPX는 hydrogen peroxide 뿐만 아니라 ROS에 의해 생성된 LPO를 무독화 한다(Jacoby, 1978). 한편, GST는 selenium 비의존성 항산화 효소로 친전자성 물질 등에 환원형 GSH를 포접하여 glutathione

Fig. 4 Effects of unfermented and post-fermented green tea by *M. pilosus* on the activities of hepatic SOD (A), GST (B), GPX (C) and activity of serum ALT (D) in the mouse fed high fat diets for 7 weeks. Values are mean $\pm$ SD (n=6), different superscripts on the bars indicate significant difference ($p < 0.05$).

thioeter (R-S-G)를 생성하며 생성된 GSH는 LPO에 작용하여 독성이 낮은 lipid alcohol로 전환케 한다(Adams 등, 1983).

본 연구에서의 고지방식은 항산화 효소활성을 급격하게 감소시키며 LPO의 함량을 증가시킨다는 Lee 등(2010)과 Song 등(2010)의 연구결과 일치한다. 또한 ALT는 아미노기의 전이에 관여하는 효소로 간 조직이 손상되면 혈액으로 유출되어 혈청에서 활성이 증가하며(Ham와 Kim, 2004), 고지방 식이는 간에 다양한 대사성 스트레스를 줌으로서 혈청 ALT의 활성이 증가한다(Savransky 등, 2007). 녹차에 비하여 *M. pilosus*로 발효시킨 후발효 녹차에서 비록 유의적인 차이는 없으나 ALT의 활성이 낮은 것은 Zhang 등(1990)이 *Monascus*속 미생물을 번식시킨 홍국이 bromobenzene으로 손상시킨 흰쥐의 간을 회복시킨다는 결과와 일치한다.

따라서, 상기의 결과는 CHA 또는 mCHA 첨가 식이가 고지방식에서 생성되는 ROS 소거 효소류의 활성을 증가시킴으로서 간 조직의 산화적 손상을 예방하거나 감소시키며, 이러한 효과는 mCHA가 CHA에 비하여 높음을 나타낸다(Fig. 3과 4). **간 조직의 현미경 관찰.** 7주간 사육한 실험동물 간 조직을 검정한 결과는 Fig. 7과 같다. NC군은 정상적인 간 조직구조를

나타낸 반면 HC군은 간 세포 내 포말형 지방과 매우 큰 소적형 지방이 축적되어 있고, 세포괴사와 염증세포의 침윤현상(↑)이 관찰되었다(Fig. 5의 HC). CHA군에서는 소적형 지방축적은 다소 감소되었으나 염증세포와 쿠퍼세포가 활성화된 모습이 보이고, 중심정맥 주변부의 정상적인 간 실질세포는 매우 적은 양상을 보인다(Fig. 5의 CHA). 반면 mCHA군은 HC군과 비교해 볼 때 간 실질세포내 지방들은 아주 작은 포말형을 나타내며 정상적인 간 실질세포의 형태가 비교적 잘 나타나 고지방 식이로 인한 간장 세포의 손상을 완화시킨 것으로 나타나고 있다(Fig. 5의 mCHA). 따라서 고지방식이 대조군인 HC군은 전형적인 비알코올성 지방간 병변이 유도되었으며(Popper와 Schaffner, 1986), 조직 병리학적으로 관찰한 결과, 간장 세포질 내 수많은 소적형태의 지방이 축적되었으며(Grundmann와 Geller, 1992), 간장 소엽 내 세포판과 동양혈관 구조가 붕괴되고 국소적인 염증세포의 침윤이 관찰되었다(Franke 등, 1979). 그러나 CHA군과 mCHA군에서는 간세포 내 축적된 지방의 크기가 작은 포말형으로 변화되고, 이로 인해 간세포의 체적증가가 있음에도 간 세포판과 동양혈관 형성이 간 소엽단위로 구분되었으며, 중심정맥 주변으로 지방축적이 없는 정상적인 간 세

Fig. 5 Light microscopic photographs of liver tissue of mouse fed unfermented and post-fermented green tea by *M. pilosus* supplemented high fat diets for 7 weeks (HE stain). Abbreviations: See Table 1. C; central vein. P; portal vein. Arrow (H1); focal infiltration of inflammatory cells. Arrow (H2); hepatocytes of central vein.

포영역이 증가되는 것으로 나타났으며 이러한 현상은 CHA군에 비하여 mCHA군에서 뚜렷하였다.

초 록

*Monascus pilosus*로 발효시킨 후 발효 녹차의 첨가식이 고지방식이 ICR 마우스의 체중과 혈청 지방함량 및 간 조직 항산화 효소활성에 미치는 영향을 조사하였다. 정상대조군(NC), 고지방식이대조군(HC), 비발효녹차 분말을 2% 첨가한 고지방식이군(CHA) 및 *M. pilosus*로 발효시킨 후발효녹차 분말을 2% 첨가한 고지방식이군(mCHA)으로 구분하여 7주간 사육하였다. 체중은 CHA군과 mCHA군간의 유의적인 차이가 없으나 HC군에 비하여 각각 24.15 및 29.66%가 감소되었으며 식이섭취량에는 차이가 없었다. 체중 당 간 및 신장의 중량은 CHA군 및 mCHA군이 HC군에 비해 증가하였다. 체중 당 부고환주위지방의 무게는 mCHA군에서 유의하게 감소하였다. 혈청 TG와 의 총콜레스테롤 함량은 mCHA군에서 NC군 수준으로 감소하였다. CHA군과 mCHA군의 HDL-cholesterol 함량은 HC군에 비하여 96.55 및 119.32%가 높았다. CHA군과 mCHA군의 CHA군 및 mCHA군의 LDL-cholesterol 함량은 각각 0.67 및 0.41을 나타내었다. 간 조직의 GSH 함량은 HC군에 비하여 CHA군이 11.24%, mCHA군은 23.68%가 높았다. LPO 함량은 CHA군과 mCHA군이 HC군에 비하여 43.70 및 45.38%가 낮았다. CHA군과 mCHA군의 xanthine oxidoreductase D type 효소활성은 HC군에 비하여 각각 18.52 및 33.33%가 감소하였

으며 mCHA군은 NC군 수준으로 높았다. XOD O type 효소활성은 CHA군과 mCHA군이 HC군에 비하여 각각 16.67 및 33.33%가 높았다. superoxide dismutase 활성은 CHA군과 mCHA군이 HC군에 비하여 유의차는 없었다. mCHA군의 glutathione S-transferase 활성은 HC군에 비하여 유의적으로 높았으며 특히, mCHA군의 glutathione peroxidase 활성은 HC군의 2.55배, CHA군의 1.5배로 높았으며 NC군과 대등하였다. CHA군과 mCHA군의 ALT 활성 HC군에 비하여 현저하게 낮았다. 간 조직의 현미경 관찰결과, CHA군과 mCHA군에서는 간세포 내 축적된 지방의 크기가 작은 포말형으로 변화되고, 이로 인해 간 세포판과 동양혈관 형성이 간 소엽단위로 뚜렷하게 구분되었다.

이상의 실험결과로 보아 *M. pilosus*로 발효시킨 후발효 녹차는 고지방식이에 의해 유발되는 비만과 고지혈증 및 지방간을 예방 혹은 경감시켜줄 수 있는 유효한 가능성을 시사하였다.

Keywords antiobese · anti-fatty liver · antioxidative enzymes · hypolipidemic · *Monascus pilosus* · post-fermented tea

감사의 글 본 연구는 농촌진흥청 차세대 바이오그린21사업(과제번호: PJ0080932011)과 농림수산식품부 농림바이오기술산업화지원사업(810007-03-1-SU000)에 의해 수행되었습니다.

참고문헌

Adams JD, Lauerberg BH, and Mitchell JR (1983) Plasma glutathione and

- glutathione disulfide in rat: Regulation and response to oxidative stress. *J Pharmacol Exp Ther* **227**, 749–54.
- Arad Y, Ramakrishnan R, and Ginsberg HN (1990) 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* **31**, 567–82.
- Birch AJ, Cassera A, Fitton D, Holker JSE, Smith H, Tompson GA et al. (1962) Studies in relation to biosynthesis. Rotiorin, monascin and rubropunctatin. *J Chem Soc* **11**, 3583–7.
- Bode AM and Dong Z (2003) Signal transduction pathway: Targets for green and black tea. *J Biochem Mol Biol* **36**, 66–77.
- Chen YC, Liang YC, Lin-Shiau SY, Ho CT, and Lin JK (1999) Inhibition of TPA-induced protein kinase C and transcription activator protein-1 binding activities by theaflavin-3,3'-digallate from black tea in NIH3T3 cells. *J Agric Food Chem* **47**, 1416–21.
- Ellman GL (1959) Tissue sulfhydryl group. *Arch Biochem Biophys* **82**, 70–7.
- Endo A (1980) Monacolin-K, a new hypocholesterolemic agent that specifically inhibits 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase. *J Antibiotics* **33**, 334–6.
- Feng Q, Torii Y, Uchida K, Nakamura Y, Hara Y, and Osawa T (2002) Black tea polyphenols, theaflavins, prevent cellular DNA damage by inhibiting oxidative stress and suppressing cytochrome P450 1A1 in cell culture. *J Agric Food Chem* **50**, 213–20.
- Flohe L, Gunzler WA, and Schock HH (1973) Glutathione peroxidase: A selenoenzyme. *FEBS Lett* **32**, 132–4.
- Franke WW, Denk H, Schmid E, Osborn M, and Weber K (1979) Ultrastructural, biochemical and immunological characterization of Mallory bodies in livers of griseofulvin-treated mice: Fimbriated rods of filaments containing prekeratin-like polypeptides. *Lab Invest* **40**, 207–20.
- Friedewald WT, Levy RI, and Fredrickson DS (1972) Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* **18**, 499–502.
- Gordon T, Kannel WB, Castelli WP, Thomase R, and Dawber TR (1981) Lipoproteins, cardiovascular disease, and death: The famingham study. *Arch Intern Med* **141**, 1128–31.
- Grundmann E and Geller SA (1992) In *Histopathology: Color Atlas of Organs and Systems*, p. 105, Urban and Schwarzenberg, USA.
- Habig WH, Pabist MJ, and Jakoby WB (1974) Glutathione S-transferase. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem* **249**, 7130–9.
- Ham YK and Kim SW (2004) Protective effects of plant extract on the hepatocytes of rat treated with carbon tetrachloride. *J Korean Soc Food Sci Nutr* **33**, 1246–51.
- Han SK, Song YS, Lee JS, Bang JK, Suh SJ, Choi JY et al. (2010) Changes of the chemical constituents and antioxidant activity during microbial-fermented tea (*Camellia sinensis* L.) processing. *Korean J Food Sci Technol* **42**, 21–6.
- Hashim MS, Lincy S, Remya V, Teena M, and Anila L (2005) Effect of polyphenolic compounds from *Coriandrum sativum* on H₂O₂-induced oxidative stress in human lymphocytes. *Food Chem* **92**, 653–60.
- Ha SK and Chae C (2010) Inducible nitric oxide distribution in the fatty liver of a mouse with high fat diet-induced obesity. *Exp Anim* **59**, 595–604.
- Heber D, Yip I, Ashley JM, Elashoff DA, Elashoff RM, Liang V et al. (1999) Cholesterol-lowering effects of a proprietary Chinese red-yeast-rice dietary supplement. *Am J Clin Nutr* **69**, 231–6.
- Im MJ, Manson PN, Bulkley GB, and Hoopes JE (1985) Effects of superoxide dismutase and allopurinol in survival of acute island skin flaps. *Ann Surgery* **201**, 357–9.
- Jacoby JB (1978) The glutathione S-transferase. A group of multifunctional detoxification proteins. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol* **46**, 383–414.
- Kang MH, Lee JH, Lee JS, Kim JH, and Chung HK (2004) Effect of acorn supplementation on lipid profiles and antioxidant enzyme activities in high fat diet-induced obese rats. *Korean Nutr Soc* **37**, 169–75.
- Kim DY (1989) The status and prospect of Korean green tea. *Food Sci Ind* **22**, 2–12.
- Lee IS, Lee SW, and Lee IZ (2003) Effects of tissue cultured ginseng on blood glucose and lipid in streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J Food Sci Technol* **35**, 280–5.
- Lee J, Jeong JY, Cho YS, Park SK, Kim KJ, Kim MJ et al. (2010) 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* **39**, 677–83.
- Lee JM, Cho WK, and Park HJ (1998) Effect of chitosan treated with enzymatic methods on glucose and lipid metabolism in rats. *Korean J Nutr* **31**, 312–8.
- Lee SI, Kim JW, Lee YK, Yang SH, Lee IA, Suh JW et al. (2011a) Anti-obesity effect of *Monascus pilosus* mycelial extract in high fat diet induced obese rats. *Appl Biol Chem* **54**, 197–205.
- Lee SI, Kim JW, Lee YK, Yang SH, Lee IA, Suh JW et al. (2011b) Protective effect of *Monascus pilosus* mycelial extract on hepatic damage in high-fat diet induced-obese rats. *J Appl Biol Chem* **54**, 206–13.
- Lee SU (1984) In *History of Korean Foods*, p. 240. Gyomunsa, Korea.
- Liang YC, Chen YC, Lin YL, Lin-Shiau SY, Ho CT, and Lin JK (1999) Suppression of extracellular signals and cell proliferation by the black tea polyphenol, theaflavin-3,3'-digallate. *Carcinogenesis* **20**, 733–6.
- Lin YL, Tsai SH, Lin-Shiau SY, Ho CT, and Lin JK (1999) Theaflavin- 3,3'-digallate from black tea blocks the nitric oxide synthase by down-regulating the activation of nf-kappab in macrophages. *Eur J Pharmacol* **367**, 379–88.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, and Randall RL (1951) Protein measurement by folin phenol reagent. *J Biol Chem* **193**, 265–75.
- Martin JP, Dailey JM, and Sugarmanand E (1987) Negative and positive assays of superoxide dismutase based on hematoxylin autoxidation. *Arch Biochem Biophys* **255**, 329–36.
- Matsuzawa-Nagata N, Takamura T, Ando H, Nakamura S, Kurita S, Misu H et al. (2008) Increased oxidative stress precedes the onset of high-fat diet-induced insulin resistance and obesity. *Metabolism* **57**, 1071–7.
- Oei HH, Kentroo WE, Burton KP, and Schaffer SW (1982) A possible role of xanthine oxidase in pproducing oxidative stress in the heart of chronically ethanol treated rats. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* **38**, 453–61.
- Ohkawa H, Ohishi N, and Yagi K (1979) Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* **95**, 248–54.
- Pagila ED and Valentine WN (1967) Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* **70**, 158–69.
- Park BH, Beck KY, Lee SI, and Kim SD (2006) 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 Dietary Life* **16**, 663–9.
- Park GY, Lee SJ, and Lim JG (1997) Effects of green tea catechin on cytochrome p450, xanthine oxidase activities in liver and liver damage in streptozocin induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* **26**, 901–7.
- Popper H and Schaffner F (1992) In *Progress in Liver Disease: Nonalcoholic Fatty Liver Disease*, Schaffner F and Thaler H (eds.), vol. 8, pp. 283–98, Grune & Stratton, USA.
- Pyo YH and Lee TC (2007) The potential antioxidant capacity and angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity of *Monascus*-fermented soybean extracts as multifunctional food additives. *J Food Sci* **72**, 218–23.
- Reitman S and Frankel S (1957) A colorimetric method for thedetermination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Am J Clin Pathol* **28**, 56–63.
- Savransky V, Bevans S, Nanayakkara A, Li J, Smith PL, Torbenson MS et al. (2007) Chronic intermittent hypoxia causes hepatitis in a mouse model of diet-induced fatty liver. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* **293**, 871–7.
- Song WY, Sung BH, Kang SK, and Choi JH (2010) 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* **39**, 71–7.
- Stripe F and Della Corte E (1969) The regulation of rat liver xanthine oxidase. *J Biol Chem* **244**, 3855–60.
- Trevisanato SI and Kim YI (2000) Tea and health. *Nutr Rev* **58**, 1–10.

- Urano S, Midori H, Tochihi N, Matsuo M, Shiraki M, and Ito H (1991) Vitamin E and the susceptibility of erythrocytes and reconstituted liposome to oxidative stress in aged diabetics. *Lipids* **26**, 58–62.
- Vladislav E, Dana K, and Monika B (2004) The effect of curcumin on cadmium-induced oxidative damage and trace elements level in the liver of rats and mice. *Toxicology Lett* **151**, 79–85.
- Wang RS, Nakajima T, and Honma T (2000) Different change patterns of the isozymes of cytochrome P450 and glutathione *S*-transferase in chemically induced liver damage in rat. *Ind Health* **37**, 440–8.
- Wilson JN, Wilson SP, and Eator RP (1984) Dietary fiber and lipoprotein metabolism in the genetically obese Zucker rat. *Arteriosclerosis* **4**, 147–53.
- Wu YG, Xia LL, Lin H, Zhou D, Qian H, and Lin ST (2007) Prevention of early liver injury by breviscapine in streptozotocin-induced diabetic rats. *Planta Med* **73**, 433–8.
- Yang CS, Jung JY, Yang G, Chhabra SK, and Lee MJ (2000) Tea and tea polyphenols in cancer prevention. *J Nutr* **130**, 472S–8S.
- Yu MH, Lee HH, Im HG, Hwang Bo MH, Kim JH, and Lee IS (2005) The effects of kimchi with *Monascus purpureus* on the body weight gain and lipid metabolism in rats fed high fat diet. *Life Sci* **15**, 536–41.
- Zhang ZL, Wen QZ, and Liu CX (1990) Hepatoprotective effects of Astragalus root. *J Ethnopharmacol* **30**, 145–9.