

고지방식이로 유도된 비만 마우스에서 바실러스균을 이용한 발효대두의 혈행개선 효과

김진솔¹, 정준한¹, 양은주², 이호우³, 이현화^{1*}

¹조선대학교 생명과학과

²(재)전남바이오산업진흥원 식품산업연구센터

³청우F&B

The blood flow improving effect of *Glycine max* fermented with *Bacillus velezensis* L2 in high fat diet induced obese mice

Jin-Sol Kim¹, Jun-Han Jeong¹, Eun Ju Yang², Ho Woo Lee³, Hyun-Hwa Lee^{1*}

¹Department of Biology, Chosun University

²Food Research Center, Jeonnam Bioindustry Foundation

³Chungwoo F&B Co.

요약 본 연구는 고지방식이로 비만이 유도된 마우스에서 *B. velezensis* L2 균을 이용한 발효대두 섭취를 통한 마우스의 혈행개선 효과를 조사하였다. 9주령의 Balb/C 수컷 마우스에 3주간 고지방식을 실시하여 비만을 유도한 후 2주 동안 고지방식과 함께 매일 lovastatin과 발효대두 추출물을 경구투여 하였으며, 실험군은 일반식이군, 고지방식이군, Lovastatin 50 mg/kg/day, 발효대두 1,000 mg/kg, 2,000 mg/kg 경구투여군으로 나누어 각 군에 무작위로 5마리씩 배정하여 실험하였다. 실험군의 체중증가량, 식이효율을 측정하였으며 실험종료 후 각그룹 마우스의 장기무게, 혈중 총 콜레스테롤 및 중성지방 농도, tail bleeding time, 혈소판 응집도를 측정하였다. 실험결과, 고지방식이군은 일반식이군에 비해 유의적으로 체중이 증가하여 비만이 유도됨을 확인하였다. 고지방식이로 유도된 비만마우스의 혈중 콜레스테롤과 중성지방의 농도는 고지방식이군에 비해 발효대두 2,000 mg/kg 군에서 유의적으로 감소하였으며 발효대두 2,000 mg/kg 군의 tail bleeding time은 고지방식이군 대비 유의적으로 연장되었고 또한 collagen에 의한 혈소판 응집반응은 발효대두 2,000 mg/kg 군에서 높은 혈소판 응집억제율을 보였다. 따라서, 이러한 결과는 *B. velezensis* L2 균을 이용한 발효대두는 고지혈증을 예방하고 개선하기 위한 기능성 소재로 활용이 가능할 것으로 판단된다.

Abstract This study investigated the effect of fermented *Glycine max* using *B. velezensis* L2 on improved blood flow in high fat-diet induced obese mice. Briefly, 9-week-old male Balb/c mice were fed a high-fat diet for three weeks, after which the high-fat diet and lovastatin or fermented *G. max* extract were administered for two weeks. Depending on the diet, the animals were randomly divided into five groups of five mice each: normal diet group(ND), high-fat diet group(HFD), lovastatin 50 mg/kg/day group(Lovastatin 50), fermented *G. max* extracts 1,000 and 2,000 mg/kg groups (FGM 1000 and FGM 2000, respectively). Weight gain and food efficiency of each mouse in each group were measured every two days. The organ weight, cholesterol and triglyceride contents, tail bleeding time, and platelet aggregation rate were measured at the end of the experiment. Our results showed significantly increased weight gain in the HFD group compared with ND group. In the FGM 2000 group, the contents of cholesterol and triglyceride were significantly lower and the animals had a significantly prolonged bleeding time compared with the HFD group. In addition, the collagen-induced platelet aggregation showed the highest platelet aggregation inhibition rate in the FGM 2000 group. These results indicate that fermented *G. max* using *B. velezensis* L2 has the potential to be used as functional materials to prevent and improve hyperlipidemia.

Keywords : *Bacillus velezensis* L2, Fermentation, *Glycine max*, Blood Flow Improving Effect, Obesity

본 연구는 2020년도 중소벤처기업부 지역주력산업육성 기술개발사업(S2915298)의 지원을 받아 수행되었음.

*Corresponding Author : Hyun-Hwa Lee(Chosun Univ.)

email: papaya@chosun.ac.kr

Received May 12, 2022

Revised June 28, 2022

Accepted August 3, 2022

Published August 31, 2022

1. 서론

심혈관질환은 전세계 사망원인 중 하나이며 우리나라에서도 급속한 고령화와 서구화된 식습관에 따라 발병이 증가하고 있어 심각한 사회문제로 대두되고 있다[1,2]. 고지혈증 또는 고콜레스테롤혈증은 체내 콜레스테롤, 중성지방, 인지질, 유리지방산과 같은 지질 성분이 비정상적으로 증가된 상태이다. 이러한 상태가 지속되면 LDL-콜레스테롤은 혈관 내 지방을 쌓이게 하여 혈전을 형성하고 협심증, 심근경색, 뇌졸중, 동맥경화증 등과 같은 심뇌혈관질환으로 발전된다[3,4]. 하지만 고지혈증, 고콜레스테롤 혈증은 곧바로 몸에 특별한 증상이 나타나지 않기 때문에 방치되기 쉽고 예방에 어려움을 겪을 수 있다. 따라서 혈중 총 콜레스테롤과 중성지방 수치를 감소시키기 위해 콜레스테롤 생합성저해제, 흡수저해제 등과 같은 치료제 개발이 이루어지고 있고[5] 스타틴, 에제티미브, 피브린산, 니코틴산, 오메가3 지방산 등이 이상지질혈증의 치료제로 이용되고 있으며[6] 그 중 스타틴 계열의 약물이 널리 사용되고 있다[7]. 스타틴계 약물은 콜레스테롤 생합성을 저해하여 콜레스테롤 양을 감소시켜 혈중 LDL-콜레스테롤을 낮추는 지질저해제로 사용되고 있지만 근통, 근육저하 등의 근육장애와 소화장애, 속쓰림 등의 부작용이 보고되고 있다[8]. 따라서 고지혈증을 예방할 수 있는 근본적인 식습관 개선과 함께 콜레스테롤 수치를 효과적으로 낮추면서 부작용을 줄일 수 있는 약물 및 기능성 식품에 대한 관심이 높아져 이를 이용한 많은 연구가 진행되고 있다[9-12].

우리나라 전통 식품 중 대표적인 콩 발효 식품인 된장은 단백질, 아미노산, 지방산, 미네랄, 비타민 등을 풍부하게 함유하고 있으며[13] 된장의 발효 및 숙성 과정 중에 다양한 미생물이 착생하며 이들의 대사작용에 의해 생산된 아미노산, 유리당 등이 된장의 맛과 향을 결정한다[14,15]. 또한 발효 과정 중 콩의 배당체 이소플라본이 비배당체 이소플라본으로 전환되거나 아미노산, 폴리페놀 성분 등의 영양성분 변화가 나타나 항암효과[16], 항산화 활성[17] 등이 증가한다고 보고되었고 콩을 발효시켜 만든 된장의 항암효과[18], 항산화[19], 심혈관질환 예방, 혈중 콜레스테롤 감소, 항비만[20] 등 다양한 효능에 대해 연구되고 있다.

된장, 간장 등과 같은 발효식품의 제조방법은 자연발효, Back slopping, 스타터 사용 발효가 알려져 있다. 자연발효는 원재료에 있었던 미생물을 이용하여 식품을 발효시키는 방법으로 환경조건에 따라 미생물의 성장에

영향을 받고 발효결과가 달라져 일정한 맛과 향을 갖는 제품을 생산하기 어려운 단점이 있다. 이처럼 자연발효가 갖는 단점으로 인해 스타터 사용 발효방법이 이용되고 있는데 스타터 사용 발효방법은 원재료에 단일 미생물 또는 혼합 미생물을 스타터로 이용해 스타터 균주가 잘 자라는 조건을 선택해 식품을 발효시키는 방법이다. 이와 같은 방법은 발효 식품의 일정한 품질을 유지할 수 있으며, 우수한 기능을 가진 균주를 이용하면 원하는 특성을 가진 발효 식품을 제조할 수 있다는 장점을 지니고 있다[21].

따라서 발효식품에 기능성을 더해줄 종균을 찾고 이를 적용하는 연구들이 진행되고 있으며, 발효 콩의 유리아미노산 및 혈압강하 작용으로 알려진 GABA(γ -aminobutyric acid)함량 증가[22], 청국장 이취 저감 효과와 우수한 비배당체 이소플라본 생성[23], 시판 청국장 제품보다 쓴맛을 내는 leucine, isoleucine, valine, methionine, phenylalanine 함량의 감소[24] 등의 기능을 지닌 미생물들이 보고되었다.

본 연구팀의 멸치액젓에서 분리한 *Bacillus velezensis* L2 균은 메주 발효 시 높은 종균 우점율을 보여주었으며 발효된 멸치메주의 protease 활성 및 아미노태 질소 함량이 높게 측정되어 아미노산 생성능이 우수한 발효 종균으로 된장의 품질향상에 효과가 있음을 확인하였다[25]. 또한 *B. velezensis* L2 균을 이용하여 대두를 발효시킨 결과, 시판제품 대비 증가된 항산화 활성과 항고혈압 활성을 보였으며 낮은 히스타민 함량과 단백질분해활성, 아미노태 질소 함량이 우수한 것으로 조사되었다(결과 미제시). 따라서 본 연구에서는 고지방식으로 비만을 유도한 마우스에서 *B. velezensis* L2 균을 통해 발효시킨 대두 추출물의 투여에 따른 마우스의 혈중 지질 콜레스테롤 및 중성지방 농도 감소 및 혈류 개선 효과를 관찰하여 *B. velezensis* L2 발효대두를 고지혈증 예방을 위한 기능성 소재로의 활용 가능성을 알아보려고 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 황칠 추출물제조

본 실험에서 *B. velezensis* L2를 이용하여 발효시킨 발효대두 분말시료는 (주)청우F&B에서 공급받아 사용하였다. 발효대두 100 g에 증류수 400 mL을 첨가하여 50°C에서 24시간 동안 추출하였으며 추출액을 Whatman No.2 여과지로 여과하고 80°C에서 rotary evaporator

(VV2000, Heidolph, Schwabach, Germany)로 농축시켜 추출물을 얻었다. 농축시킨 추출물은 4℃에서 보관하면서 실험에 사용하였다.

2.2 실험동물 사육 및 식이

실험동물은 9주령의 Balb/C 수컷 마우스 25마리를 (주)샘타코(Samtako bio Korea, Osan, Korea)서 공급받아 사용하였다. 일반식이 섭취군(정상대조군)을 제외한 모든 군에 60% fat을 포함하는 고지방 사료(No.D12492, Reserch Diets Inc, New Brunswick, USA)를 5주간 공급하여 고지혈증을 유도하였으며 식수를 충분히 공급하고 온도 22 ± 2℃, 습도 55 ± 5%, 조명 12시간/일 조건을 유지하였다. 모든 동물실험은 조선대학교 동물실험윤리위원회의 승인(CIACUC2020-A0037)을 받은 후 연구 지침을 준수하여 진행하였다.

2.3 실험군과 시료투여

실험군은 마우스 5마리를 한 군으로 하여 정상대조군(일반식이 섭취군), 음성대조군(고지혈증 유도군, 단독 고지방식이 섭취군), 양성대조군(고지방식이와 함께 lovastatin 50 mg/kg/day투여군), 발효대두 추출물 투여군(고지방식이와 함께 발효대두 추출물 1,000 mg/kg, 2,000 mg/kg)으로 하였고 마우스는 난괴법(randomized complete block design)을 따라 무작위로 배정하였다.

정상대조군은 일반식이를 5주간 자율급식으로 제공하였고 실험군과 비슷한 스트레스를 주기 위해 실험 종료 2주 전부터 1X PBS 200 uL/day를 경구투여하였다[26,27]. 음성대조군은 고지방식이를 자율급식으로 제공하고 마찬가지로 실험 종료 2주전부터 1X PBS 200 uL/day를 경구투여하였다. 양성대조군과 발효대두 추출물 투여군은 고지방식이로 3주간 고지혈증을 유도한 후 2주 동안 고지방식이와 함께 고콜레스테롤 치료제로 이용되는 lovastatin(Sigma, St. Louis, USA)[28,29]과 발효대두 추출물(Fermented *Glycin max* extract; FGM)을 각각 lovastatin 50 mg/kg/day, FGM 1,000 mg/kg/day, 2,000 mg/kg/day 의 농도로 1X PBS 200 uL에 녹여 2주 동안 매일 경구투여하였다.

양성대조군 lovastatin의 투여용량은 lovastatin의 물질안전보건자료(Material Safety Data Sheets, MSDS)를 참고하여 랫트에 급성독성을 일으키는 5 g/kg 이하의 lovastatin 50 mg/kg/day를 사용하였다[30]. 또한, 본 실험에서 마우스에 투여한 대두의 용량 범위는 한국식품의약품안전처 고시 제 2017-17호(2017.08.30.)

‘의약품등의 독성시험기준’에 의거하여, 설치류 경구 투여시 최대 투여용량을 2,000 mg/kg농도로 설정하였다. 마우스에서 발효 대두의 혈행개선 효능을 확인한 후 인체 적용 섭취량(Human equivalent dose, HED)은 미국식품의약국(Food and Drug Administration, FDA) 보고[31]에 따라 다음과 같이 계산하였다Eq. (1).

$$\begin{aligned} \text{Human equivalent dose(HED) mg/kg} \\ &= \text{Animal dose(mg/kg)} \times 0.081(\text{conversion factor}), \\ &60 \text{ kg 성인 기준 하루 섭취량(mg/60kg/day)} \\ &= \text{HED(mg/kg)} \times 60 \end{aligned} \quad (1)$$

2.4 체중변화 및 식이효율 계산

실험동물의 체중과 식이 섭취량은 실험 시작일부터 실험 종료일 동안 48시간 간격으로 경구투여하기 전 오전 11시에 측정하였다. 각 군의 식이 섭취량은 공급한 식이 무게에서 다음 날 남아 있는 식이 무게를 제하여 측정하였고[26] 이를 체중의 증가량과 비교하여 아래와 같은 식으로 식이효율을 계산하였다Eq. (2).

$$\begin{aligned} \text{식이효율(Food efficiency ratio, FER)} = \\ \text{체중 증가량(Weight gain, g)} / \\ \text{식이 섭취량(Food intake, g)} \end{aligned} \quad (2)$$

2.5 혈액채취 및 장기무게 측정

마우스의 혈액채취 및 장기무게 측정을 위하여 실험 종료 24시간 전 절식 시키고 1X PBS로 희석한 25% Urethane(Sigma, St. Louis, USA) 200 uL를 복강투여하여 마취시키고 심장채혈을 진행하였다. 또한 심장, 비장, 간, 신장을 적출하여 주변 지방 등 이물질 제거하였고 그 후 장기를 관찰하고 무게를 측정, 기록하여 실험군 간의 차이를 관찰하였다.

2.6 혈중 중성지방 및 콜레스테롤 측정

채취된 혈액은 1,500 × g 원심분리(Centrifuge Micro 17TR, Hanil Science, Inchun, Korea)를 통해 혈장을 분리하여 혈중 중성지방 및 콜레스테롤 측정에 사용하였다. 측정기기는 ADVIA 1800(SIEMENS Healthcare, Japan)를 사용하였다. 혈중 중성지방 및 콜레스테롤 측정은 각각 ADVIA 1800 Chemistry Triglycerides_2 reagent(TRIG_2), ADVIA 1800 Chemistry Cholesterol_2 Reagents(CHOL_2)를 사용하여 ADVIA chemistry

calibrator(Siemens Healthcare Diagnostics Inc)로 계산하였다. HDL 및 LDL함량 측정은 Direct HDL Cholesterol reagent 와 LDL Cholesterol reagent를 사용하여 ADVIA Chemistry HDL/LDL Cholesterol calibrator(Siemens Healthcare Diagnostics Inc)를 통해 계산하였다. 또한 동맥경화지수(AI; atherogenic index)는 Kim 등[32]의 보고에 따라 다음과 같은 식으로 계산하였다Eq. (3).

$$\text{동맥경화지수(AI; atherogenic index)} = \frac{\text{Total cholesterol} - \text{HDL cholesterol}}{\text{HDL cholesterol}} \quad (3)$$

2.7 Mice tail bleeding time 측정

Mice tail bleeding time측정은 Hornstra의 방법 [33]을 수정하여 측정하였다. 마우스를 25% Urethane 으로 마취한 후 꼬리 끝에서 0.4 cm 되는 지점을 잘라 37°C의 생리식염수에 곧바로 직각으로 담갔다. 시간 측정은 bleeding이 시작되는 시점부터 처음 멈춘 시간까지를 측정하였으며 bleeding이 300초 이상 진행될 경우 300초로 표기하였다[34].

2.8 혈소판 응집 측정

혈소판 응집 측정을 위해 항응고제(0.8% citric acid, 2.2% sodium citrate, 2.45% glucose)와 채취한 혈액이 1 : 9의 비율이 되도록 혼합한 후 상온에서 230 × g에서 10분 동안 원심 분리하여 혈장층을 얻었고 1,100 × g에서 10분 동안 원심 분리 후 상층액을 제거하여 platelet rich plasma(PRP)층만을 분리하였다. 분리한 PRP층을 washing buffer(138 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 12 mM NaHCO₃, 0.36 mM NaH₂PO₄, 5.5 mM glucose, 1 mM EDTA, pH 6.5)로 10분간 1,100 × g에서 2회 원심분리하여 상층액을 제거한 후 suspending buffer(138 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 12 mM NaHCO₃, 0.36 mM NaH₂PO₄, 0.49 mM MgCl₂, 5.5 mM glucose, 0.25% gelatin, pH 7.4)를 이용하여 최종 1.18 × 10⁶ platelet/mL 로 혈소판을 계수화하여 최종 사용하였다.

혈소판 응집은 응집유도제로 알려진 collagen과 thrombin(Sigma, St. Louis, USA)을 이용하여 흡광도를 측정해 계산하였다. 96 well plate에 계수화 한 혈소판 200 uL에 2 mM CaCl₂를 넣어 37°C에서 3분간 110

rpm으로 반응시킨 다음 660 nm에서 흡광도를 측정하였다. 그 후 100 ug/mL collagen과 2 U/uL thrombin을 각각 넣고 37°C에서 5분간 110 rpm으로 반응 후 최종적으로 660 nm에서 흡광도를 측정하였다. 아래의 계산식으로 투과도를 계산하여 응집 정도(%)를 나타내었고 [35] 단독 고지방식이 섭취군의 혈소판 응집도를 100%로 하여 lovastatin 50 mg/kg/day, 발효대두 추출물 1,000, 2,000 mg/kg 투여군의 혈소판 응집도를 계산하였다 Eq. (4).

$$\text{Transmittance} = 10^{-\Delta A} \quad (4)$$

$$\Delta A = \text{OD}_{660}(5 \text{ min} - 3 \text{ min})$$

2.9 통계처리

통계적 분석은 IBM SPSS Statistics software (ver. 23, IBM Co., NY, USA)를 이용하여 실험결과를 평균 ± 표준편차(mean ± SD)로 표시하였다. 각 실험군의 차이는 일원배치분산분석법(one way analysis of variance, ANOVA)으로 분산분석을 하였으며, 실험군의 통계적 유의성을 Duncan's multiple range test로 유의성을 $p < 0.05$ 수준에서 검정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 체중증가 및 식이효율

고지방식이를 3주 동안 급이한 뒤 2주간 고지방식이와 함께 lovastatin 50 mg/kg/day, 발효대두 추출물 1,000 mg/kg과 2,000 mg/kg을 투여에 따른 마우스의 체중증가량, 식이 섭취량 및 식이효율은 Table 1과 같다. 일반식이 섭취군(ND; normal diet)의 체중 증가는 1.44 g으로 나타났으며 0.017의 식이효율을 보였다. 고지방식이 섭취군(HFD; high fat diet), Lovastatin 50, FGM 1000, 2000 섭취군에서는 평균 3.73 ~ 4.92 g로 ND군에 비해 7.6 ~ 14.9%의 유의적인 체중증가가 관찰되었고 0.022 ~ 0.026의 식이효율을 나타냈다. HFD군에서 효과적인 체중 증가는 ND군보다 낮은 식이 섭취량에도 불구하고 고지방식이로 인해 비만이 유도된 것으로 보이며 또한 FGM 2000군의 체중 증가량은 3.73 g으로 HDF군 4.92 g에 비해 유의적으로 낮은 체중 증가를 보여 FGM 2000의 섭취가 체중 감량에 도움을 줄 수 있을 것으로 판단된다.

Table 1. Food efficiency rate of male mice fed fermented *Glycine max* extract for 5 weeks

Diet	Dose (mg/kg)	Initial weight (g)	Final weight (g)	Weight gain (g)	Food intake (g/weeks)	FER
Normal diet	PBS	25.28±0.83	26.71±1.24	1.44±0.61 ^c	26.43±4.50	0.017±0.010
	PBS	25.77±0.93	30.70±0.97	4.92±1.32 ^a	23.88±5.95	0.026±0.013
High fat diet	Lovastatin 50	24.58±0.82	29.66±0.57	4.79±0.17 ^a	25.31±4.49	0.022±0.003
	FGM 1000	24.81±1.26	29.39±1.04	4.58±0.23 ^a	25.50±10.40	0.025±0.005
	FGM 2000	25.02±1.02	28.74±1.61	3.73±0.79 ^b	25.83±9.77	0.023±0.006

FGM : Fermented *Glycine max* extract. Weight gain(g) = final weight(g) - initial weight(g), FER(Food efficiency ratio) = weight gain(g/weeks) / food intake(g/weeks). The values represent the means ± SD for each group (n = 5). Means with different letters(a-b) are statistical difference as determined by Duncan's multiple test (p < 0.05).

3.2 장기무게 변화

발효대두 추출물 투여에 따른 마우스의 내부기관 이상 유무를 알아보기 위하여 주요 장기인 심장, 비장, 간 신장을 육안으로 관찰하고 그 무게를 측정하였다. 고지방 식이를 3주 동안 급이한 뒤 2주간 고지방식이와 함께 lovastatin 50 mg/kg/day, 발효대두 추출물 1,000 mg/kg과 2,000 mg/kg을 투여한 마우스의 장기무게를 측정한 결과, 고지방식이 섭취군(HFD; high fat diet), Lovastatin 50, FGM 1000과 FGM 2000군의 장기무게는 일반식이 섭취군(ND; normal diet)에 비해 전체적으로 증가하였다. 이는 고지방식이 섭취로 인한 마우스의 체중 증가 때문으로 판단되며[36] HFD군과 발효대두 추출물 1,000, 2,000 mg/kg을 함께 경구투여군 간에는 장기 무게의 유의적인 차이를 보이지 않았다(Table 2). 본 실험에서 HFD군의 간 무게는 ND군에 비해 유의적으로 높게 측정되었고 이러한 결과는 과다한 탄수화물 및 지방의 섭취는 간의 지방 합성과 축적을 촉진하고 간의 중량을 높인다는 보고와 일치하였다[37].

또한 모든 실험군들에 마우스의 심장, 비장, 간, 신장을 육안으로 관찰하였을 때 ND군과 HFD군 사이에 장기의 색과 모양에 차이는 나타나지 않았다(결과 미제시). 이러한 결과는 lovastatin 50 mg/kg/day과 발효대두 추출물 1,000, 2,000 mg/kg를 섭취한 마우스에서 어떠한 독성과 비정상적 임상 증상을 유발하지 않은 것으로 판단된다.

3.3 혈중 중성지방 및 콜레스테롤 변화

발효대두 추출물이 마우스의 혈중 중성지방과 콜레스테롤 수치에 미치는 영향을 알아보기 위해 3주 동안 고지방식이를 급이 한 후 고지방식이와 함께 lovastatin과 발효대두 추출물을 2주 동안 경구투여 하여 마우스의 중

성지방, 총 콜레스테롤 및 HDL 콜레스테롤, LDL 콜레스테롤 수치를 측정하였다. 그 결과, 혈중 중성지방의 농도는 일반식이 섭취군(ND; normal diet)이 43.0 mg/dL, 고지방식이 섭취군(HFD; high fat diet)은 56.5 mg/dL으로 ND군에 비해 유의적으로 높은 결과를 보였다(Fig. 1). Lovastatin 50군의 중성지방 농도는 43.7 mg/dL, FGM 1000과 2000군에서는 각각 50.3, 47.5 mg/dL을 나타내 HFD군에 비해 각각 22.7, 10.9 15.9% 낮은 중성지방 농도가 측정되었으며 Lovastatin 50군에서는 ND군과 유사한 중성지방농도가 관찰되었다. 또한 발효대두 추출물 투여군 중 FGM 2000군의 중성지방 농도는 FGM 1000군에 비해 5.6% 낮은 중성지방 농도를 보였으며 이는 발효대두 2,000 mg/kg의 농도에서 효과적으로 중성지방 수치를 감소시키는 것으로 판단된다.

ND군과 HFD군의 총 콜레스테롤은 각각 141.7 mg/dL, 170.0 mg/dL이며, HDL-콜레스테롤은 87.0 mg/dL, 114.5 mg/dL로 측정되었고 LDL-콜레스테롤은 각각 49.0 mg/dL(ND군)과 63.5 mg/dL(HFD군)로 증가함으로써 ND군에 비해 HFD군의 콜레스테롤 수치가 유의적으로 증가하였다. Lovastatin 50군의 총 콜레스테롤 농도는 165.3 mg/dL로 HFD군과(170.50 mg/dL) 유의적인 차이를 보이지 않았으며 이는 lovastatin의 투여 용량, 기간 등에 의한 차이로 판단된다. FGM 1000군의 총 콜레스테롤 농도는 169.7 mg/dL로 HFD군과 유의적인 차이가 없었으나 FGM 2000군의 총 콜레스테롤 농도는 155.0mg/dL로 HFD군 대비 9.0%의 유의적인 감소를 확인하였다.

HDL-콜레스테롤 농도 측정 결과, HFD군의 HDL-콜레스테롤 함량은 ND군에 비해 7.7% 증가하였으나 고지방식이 섭취군들과 유의적인 변화를 보이지 않았다. Lovastatin 50군과 HFD군의 LDL-콜레스테롤 함량은

Table 2. Organ weight of male mice fed with high fat diet and fermented *Glycine max* extract for 5 weeks.

Diet	Dose (mg/kg)	Organ weight (g)				
		Heart	Spleen	Liver	Kidney (R)	Kidney (L)
Normal diet	PBS	0.16±0.01 ^c	0.08±0.01 ^{ab}	1.02±0.07 ^b	0.19±0.02	0.19±0.01
	PBS	0.17±0.01 ^{bc}	0.09±0.02 ^a	1.25±0.12 ^a	0.21±0.02	0.20±0.02
High fat diet	Lovastatin 50	0.19±0.02 ^a	0.09±0.01 ^a	1.20±0.08 ^a	0.22±0.02	0.21±0.02
	FGM 1000	0.18±0.01 ^{ab}	0.07±0.01 ^b	1.12±0.10 ^{ab}	0.21±0.01	0.20±0.02
	FGM 2000	0.17±0.02 ^{bc}	0.08±0.01 ^a	1.14±0.13 ^{ab}	0.23±0.03	0.22±0.03

FGM: Fermented *Glycine max* extract. The values represent the means ± SD for each group (n=5). Means with different letters are statistical difference as determined by Duncan's multiple test ($p < 0.05$)

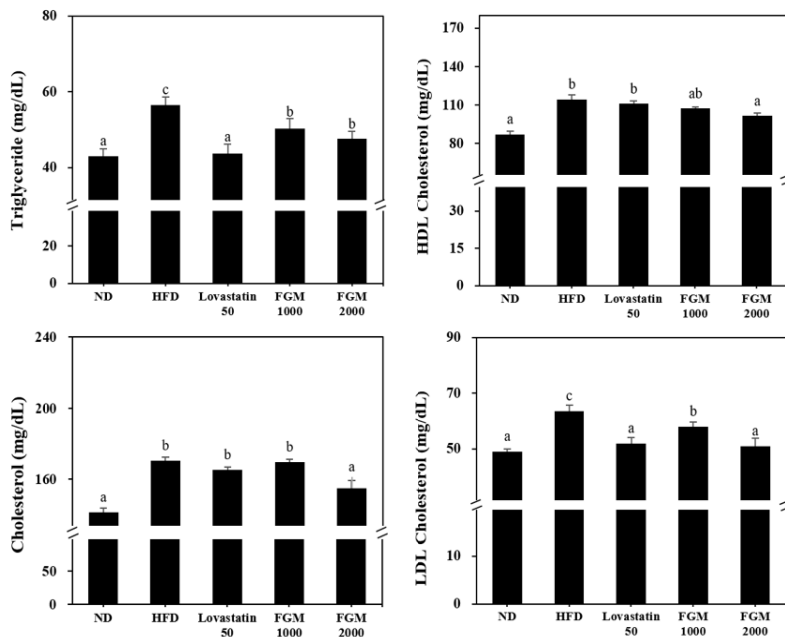


Fig. 1. Effect of fermented *Glycine max* extract on triglycerides and cholesterol in male mice fed with high fat diet for 5 weeks. ND; normal diet group, HFD; high fat diet group, Lovastatin 50; high fat diet and lovastatin 50 mg/kg/day group, FGM 1000; high fat diet and fermented *G. max* 1,000 mg/kg/day group, FGM 2000; high fat diet and fermented *G. max* 2,000 mg/kg/day group, HDL; high density lipoprotein, LDL; low density lipoprotein. The values represent the means ± SD for each group (n = 3). Means with different letters(a-c) are statistical difference as determined by Duncan's multiple test ($p < 0.05$).

각각 52.0 mg/dL과 63.5 mg/dL로 나타나 HFD군 대비 Lovastatin 50군의 LDL-콜레스테롤 수치는 18.1% 낮은 결과를 보였다. 또한 FGM 1000군과 2000군의 LDL-콜레스테롤 함량은 각각 58.0 mg/dL, 51.0 mg/dL로 HFD군에 비해 8.7%, 19.7% 유의적인 감소가 나타나 Lovastatin 50군과 FGM 2000군은 ND군의 LDL-콜레스테롤 수치와(49.0 mg/dL) 유사한 결과를 확인할 수 있었다. Kim 등의[38] 연구에서 고지방식이로 비만을 유도한 마우스에서 홍국발효대두 추출물의 농도

에 따라 혈중 콜레스테롤과 LDL콜레스테롤, 중성지방 농도를 감소시킨 결과와 유사한 경향을 보였다. 또한 Lim 등의[37] 연구에 따르면 고지혈증 흰쥐에서 이소플라본을 증가시킨 대두분말을 섭취시킨 결과 이소플라본 고함유 대두 분말 20% 첨가군에서 고지방식이 섭취군과 비교하였을 때 LDL-콜레스테롤 함량이 36% 감소되었으며 일반식이 섭취군과 비슷한 수준까지 낮춰졌다고 보고하였다.

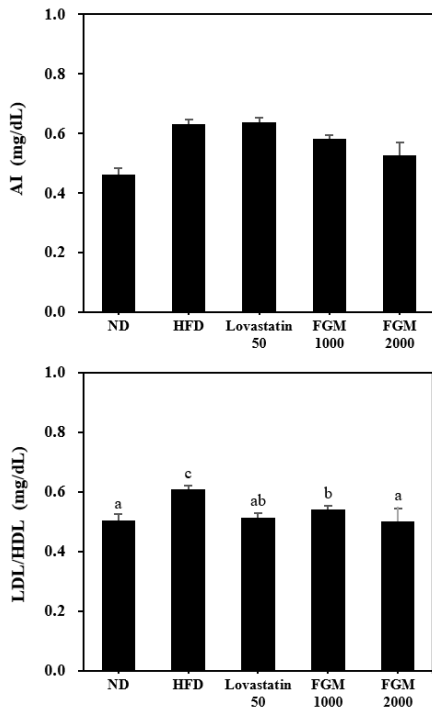


Fig. 2. Effect of fermented *Glycine max* extract on atherosclerotic index and LDL-cholesterol / HDL-cholesterol ratio in male mice fed with high fat diet for 5 weeks. ND; normal diet group, HFD; high fat diet group, Lovastatin 50; high fat diet and lovastatin 50 mg/kg/day group, FGM 1000; high fat diet and fermented *G. max* 1,000 mg/kg/day group, FGM 2000; high fat diet and fermented *G. max* 2,000mg/kg/day group, HDL; high density lipoprotein, LDL; low density lipoprotein. AI; atherosclerotic index. The values represent the means \pm SD for each group (n = 3). Means with different letters are statistical difference as determined by Duncan's multiple test ($p < 0.05$).

고지방 식이로 비만이 유도된 마우스의 혈중 콜레스테롤 농도를 이용하여 심혈관계 질환의 위험성에 대한 발효대두 추출물의 효과를 살펴보았다. 동맥경화지수(AI; atherosclerotic index)와 LDL-콜레스테롤/HDL-콜레스테롤 값은 심혈관 질환의 위험도를 나타낸다고 알려져 있다[39]. 고지방식이 섭취군들의 동맥경화지수는 모두 ND군에 비하여 증가하였으나 군 간의 유의적인 차이는 나타나지 않았다(Fig. 2). 각 군들의 LDL-콜레스테롤 /HDL-콜레스테롤 값은 ND군이 0.505, HFD군이 0.607 그리고 Lovastatin 50, FGM 1000, 2000 군에서 각각 0.515, 0.540, 0.502로 나타났으며 HFD군이 ND군에 비해 20% 높은 LDL-콜레스테롤/HDL-콜레스테롤 값이 측정되었다. 또한 Lovastatin 50군과 FGM 2000군은 HFD군에 비해 유의적으로 낮았으며 각각 HFD군 대비 15.3, 17.3% 감소하였고 특히 FGM 2000군은 ND군과 유사한 결과를 나타냈다. 이러한 결과는 lovastatin과 같은 스타틴 계열의 약물인 simvastatin이 고지방, 고콜레스테롤 식이에 의해 고지혈증이 유도된 흰쥐의 LDL-C/HDL-C 비율을 낮추는 효과가 있다는 보고[27]와 유사한 경향을 보였다.

이상지질혈증은 고지혈증으로도 불리며 혈중 콜레스테롤과 중성지방, LDL-콜레스테롤 수치가 증가된 상태로 이는 심뇌혈관질환의 주된 원인인자로 알려져 있다 [40]. HDL-콜레스테롤은 혈중 콜레스테롤을 간으로 이송하여 혈중 함량을 감소시키는 반면, LDL-콜레스테롤은 간으로부터 혈중 콜레스테롤을 다른 조직이나 혈액으로 옮기는 역할을 하며 이는 체내 콜레스테롤을 축적시키는 결과로 이어지게 된다[41].

본 실험결과 고지방식으로 유도된 비만 마우스에서 2,000 mg/kg의 농도의 발효대두 추출물은 고지방식만을 섭취한 실험군에 비해 유의적으로 LDL-콜레스테롤 함량이 감소되었으며 LDL-콜레스테롤의 저하가 총 콜레

Table 3. Effect of fermented *Glycine max* extract at the tail bleeding time of male mice fed high fat diet for 5 weeks.

Diet	Dose (mg/kg)	Tail bleeding time (second)
Normal diet	PBS	78.8 \pm 16.5
	PBS	62.5 \pm 19.0
High fat diet	Lovastatin 50	113.3 \pm 15.1*
	FGM 1000	137.5 \pm 14.5*
	FGM 2000	176.3 \pm 16.0*

FGM ; Fermented *Glycine max* extract. The values represent the means \pm SD for each group (n = 5). * compared with the control group at $p < 0.05$.

스테롤 함량을 감소시킨 것으로 보인다. 발효대두 추출물에 의해 마우스의 혈중 중성지방 및 콜레스테롤 농도가 감소되었으며 또한 심혈관질환의 위험도를 의미하는 LDL-C/HDL-C의 비율이 고지방식이군에 비해 발효대두 추출물 2,000 mg/kg 군에서 낮게 나타나 발효대두 추출물이 고지혈증, 고콜레스테롤 혈증을 개선하는 효과가 있을 것으로 판단된다.

3.4 Mouse tail bleeding time 효과

비만 마우스에서 발효대두 추출물이 혈류의 흐름에 미치는 영향을 조사하기 위해 마우스에 3주 동안 고지방식을 급여 한 후 고지방식과 함께 lovastatin과 발효대두 추출물을 2주 동안 경구투여한 후 tail bleeding time을 측정하였다. 고지방식이 섭취군(HFD; high fat diet)의 tail bleeding time은 62.5 ± 19 초로 일반식이 섭취군(ND; normal diet)에 비해 낮은 것으로 나타났고 FGM 1000과 2000군은 각각 137.5 ± 14.5 , 176.3 ± 16 초로 발효대두 추출물의 농도에 따라 HFD군에 비해 유의적으로 tail bleeding time이 연장되었다(Table 3).

본 실험에서 HFD군에 비하여 FGM 1000군과 2000군에서 각각 1.7, 2.2배 연장된 bleeding time 보인 결과는 오메추출물의 혈행개선 효과를 살펴본 연구에서 [34] 물을 투여한 대조군 대비 오메추출물 50 mg/kg 투여군에서 bleeding time이 1.6배 연장된 결과와 유사한 경향을 나타내었다. 또한 혈전을 유도한 랫트에서 발효시킨 *Ophiopogon japonicus*의 항혈전 효과를 살펴본 연구에서, 혈전을 유도한 랫트의 bleeding time은 대조군에 비해 단축되었고 혈전을 유도 후 발효 *O. japonicus* 추출물을 경구투여한 군은 대조군과 혈전 유도군에 비해 유의적으로 bleeding time이 연장되었으며 이는 발효 *O. japonicus* 추출물이 항혈전 효과를 나타냈기 때문으로 보고하였다[42].

정상 혈관에서는 혈소판 응집을 촉진시키는 인자와 억제시키는 인자가 균형을 맞추고 있지만 동맥경화증이나 혈관벽의 상처와 같은 유전적, 환경적 여러 가지 요인에 따라 지나치게 혈소판 응집이 활성화되면 혈전이 형성되고 이는 혈액의 흐름을 막아 심혈관질환 등의 다양한 혈행장애를 일으키게 된다[43,44]. Tail bleeding time은 일반적으로 혈액응고분석에 사용되는 방법 중 하나이며, tail bleeding time이 연장된 경우 혈전 또는 다른 물질에 의해 혈류가 방해 받지 않고 원활하게 순환하고 있음을 나타낸다[45,46].

본 실험 결과, 고지방식이로 비만을 유도한 마우스에서 발효대두 추출물이 지나친 혈소판 응집을 저해하여 혈전 형성을 억제시켰고 그 결과 HFD군에 비해 발효대두 추출물 투여군에서 tail bleeding time이 연장된 것으로 보이며 이는 고지방식이로 인해 악화된 혈류 흐름이 발효대두 추출물에 의해 개선된 것으로 판단된다.

3.5 혈소판 응집 억제 작용

발효대두 추출물이 혈전 형성에 미치는 효과를 알아보기 위해, 3주 동안 고지방식을 급여 한 후 고지방식과 함께 lovastatin과 발효대두 추출물을 2주 동안 경구투여한 후 마우스의 혈소판을 분리하고 혈소판 응집 유도제인 thrombin과 collagen으로 혈소판 응집반응을 유도하여 혈소판 응집도를 측정하였다. Thrombin에 의한 HFD군의 혈소판 응집도(%)에 대해 Lovastatin 50군과 FGM 1000, 2000군에서 각각 47.13, 36.25, 38.64%로 혈소판 응집이 억제되었고, collagen에 의한 HFD군의 혈소판 응집도(%)에 대해 Lovastatin 50군과 FGM 1000, 2000군에서 각각 43.13, 45.33, 46.98%의 혈소판 응집 억제를 보였다(Fig. 3). Sang 등은[47] lovastatin에 의한 혈소판막의 콜레스테롤 함량변화가 혈소판막의 유동성을 변형시켜 혈소판 응집을 감소시킬 것으로 보고하였으며 본 실험 결과, collagen에 의해 유

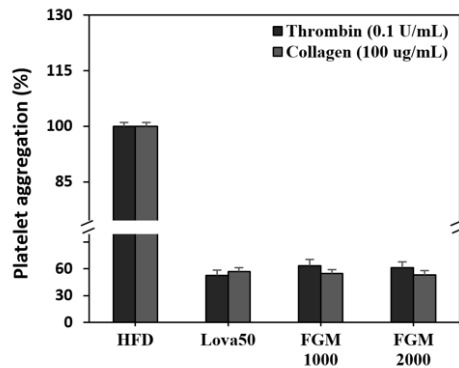


Fig. 3. Effect of fermented *Glycine max* extract on platelet aggregation(%) induced by thrombin and collagen. HFD; high fat diet group, Lovastatin 50; high fat diet and lovastatin 50 mg/kg/day group, FGM 1000; high fat diet and fermented *G. max* extract 1,000 mg/kg/day group, FGM 2000; high fat diet and fermented *G. max* extract 2,000 mg/kg/day group. The graphs represent the means \pm SD for each group (n = 3).

도된 혈소판 응집 반응에서 FGM 2000군은(46.98%) Lovastatin 50군(43.13%) 보다 효과적으로 혈소판 응집을 억제하였다.

Lee 등은[48] 탈지대두와 *B. subtilis* NUC1 균으로 발효시킨 탈지대두 발효물의 혈소판 응집 억제효과를 비교한 결과, 탈지대두는 혈소판 응집 억제 효과를 보이지 않았고 응집 촉진제로 사용된 ADP(Adenosine triphosphate)를 처리한 군에서 약 79%의 혈소판 응집력을 보인 반면 발효된 탈지대두를 처리한 군에서는 29.7%의 낮은 혈소판 응집력을 보였으며 이는 발효된 탈지대두가 발효과정 중에 새로운 생리활성 물질들이 생성되어 항혈전 개선 효과를 나타냈다고 보고하였다.

혈소판은 지혈, 혈액 내 혈전 생성에도 중요한 역할을 하는데[49] 혈소판의 과응집이 일어나면 혈전이 생성되고 이 혈전이 혈액의 흐름을 막아 혈류장애를 일으키기 때문에 과도한 혈소판의 활성을 억제하는 것은 혈류장애 예방에 중요하다[50]. 본 실험 결과, collagen에 의한 혈소판 응집반응에서 FGM 2000군의 혈소판 응집억제율이 가장 높게 측정되었고 이러한 발효대두의 혈소판 응집 억제 작용은 고지혈증이 유발된 마우스의 혈관에서 정상적인 혈액 흐름을 유지시켜 주는 것으로 판단되었다. 본 실험 결과 마우스에서 혈행개선 효과를 나타낸 발효대두 2,000 mg/kg을 FDA 보고서[31]에 따라 인체 적용 섭취량(Human equivalent dose, HED)을 조사한 결과, 시료량은 162 mg/kg이며 60 kg 성인을 기준으로 일일섭취량 9.7 g/day로 환산되었다. 이러한 결과는 발효대두 추출물의 혈행개선 작용에 대한 기초 자료로 혈행개선의 예방 및 기능성 소재로 유용할 것으로 판단된다.

4. 결론

고지방식으로 비만을 유도한 마우스에서 발효대두 추출물을 경구투여한 후 마우스의 고지혈증 개선 효과를 조사하였다. 그 결과 고지방식이군은 일반식이군에 비해 유의적으로 체중이 증가하여 비만이 효과적으로 유도된 것으로 보이며 고지방식이군, Lovastatin 50, FGM 1000, 2000 군의 장기 무게의 유의적인 변화가 나타나지 않았으며 장기의 색과 모양에도 차이가 나타나지 않아 lovastatin과 발효대두 추출물이 마우스에서 어떠한 독성과 비정상적 임상 증상을 유발하지 않은 것으로 판단된다. 혈중 중성지방, 총 콜레스테롤 및 HDL 콜레스테

롤, LDL 콜레스테롤 수치를 측정된 결과, FGM 2000군에서 HFD 군에 유의적으로 총 콜레스테롤 및 LDL-콜레스테롤 함량이 감소되었고 이는 LDL-콜레스테롤의 저하가 총 콜레스테롤 함량을 감소시킨 것으로 보인다. 또한 고지방식으로 비만을 유도한 마우스의 tail bleeding time을 측정된 결과, 발효대두 추출물이 지나친 혈소판 응집을 저해하여 혈전 형성을 억제시켜 HFD군에 비해 발효대두 추출물 투여군에서 tail bleeding time이 연장된 것으로 보이며 이는 고지방식으로 인해 악화된 혈류 흐름이 발효대두 추출물에 의해 개선된 것으로 판단된다. 마지막으로 collagen에 의한 혈소판 응집반응에서 FGM 2000군의 혈소판 응집억제율이 가장 높게 측정되었다. 따라서 발효대두 추출물이 고지혈증, 고콜레스테롤 혈증을 개선시키는데 효과가 있을 것으로 판단되어 향후 *B. velezensis* L2 균을 이용한 발효대두가 고지혈증 예방을 위한 기능성 소재로 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

References

- [1] M. H. Jeong, S. H. Lee, J. W. Lee, W. H. Kim, Research Findings of the Korea Acute Myocardial Infarction Registry-National Institute of Health (KAMIR-NIH), Public Health Weekly Report, National Institute of Health, Korea, pp.246-247.
- [2] J. Y. Kim, K. Rhew, "Atherosclerotic Cardiovascular Disease Risk and Statin Prescription Status in Korean Adult Patients", *Korean Journal of Clinical Pharmacy*, Vol.31, No.3, pp.198-204, 2021. DOI: <https://doi.org/10.24304/kjcp.2021.31.3.198>
- [3] A. H. Lichtenstein, L. J. Appel, M. Brands, M. Carnethon, S. Daniels, et al., "Diet and lifestyle recommendations revision 2006: a scientific statement from the American Heart Association Nutrition Committee", *Circulation*, Vol.114, No.1, pp.82-96, June, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.176158>
- [4] G. L. Lee, E. S. Shon, Development trends of hyperlipidemia drugs, Emerging S&T Report, Korea Institute of Science and Technology Information, Korea, pp.3-6.
- [5] I. C. Seol, "Drug research and development tend to hyperlipidemia", *Journal of Haehwa Medicine*, Vol.18, No.2, pp.1-12, Dec. 2009.
- [6] S. H. Lee, "Update on the Pharmacologic Agents for Dyslipidemia", *The Journal of Korean Diabetes*, Vol.16, No.4, pp.269-275, Dec. 2015. DOI: <https://doi.org/10.4093/jkd.2015.16.4.269>

- [7] S. M. Lin, J. H. Wang, C. C. Liang, H. K. Huang, "Statin use is associated with decreased osteoporosis and fracture risks in stroke patients", *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, Vol.103, No.9, pp.3439-3448, July. 2018.
DOI: <https://doi.org/10.1210/jc.2018-00652>
- [8] Y. R. Lee, *The association of mortality with statin drug compliance in patients diagnosed with dyslipidemia*, Master's thesis, Yonsei University of Health Policy and Management, Seoul, Korea, pp.10, 2019.
- [9] J. S. Youn, M. S. Kim, H. J. Na, H. R. Jung, C. K. Song, et al., "Screening test for *Dendropanax moribifera* Leveille extracts: in vitro comparison to ox-LDL-induced lipid accumulation, ethanol-induced fatty liver and HMG-CoA reductase inhibition", *Journal of Applied Biological Chemistry*, Vol.61, No.1, pp.1-8, Mar. 2018.
DOI: <https://doi.org/10.3839/jabc.2018.001>
- [10] K. M. Kim, B. S. Kim, J. S. Kang, "The preventive effect of *Bacillus polyfermenticus* KJS-2 and *Angelica gigas* Nakai extract on Triton WR-1339-induced hyperlipidemia", *Journal of Life Science*, Vol.28, No.6, pp.726-732, June. 2018.
DOI: <https://doi.org/10.5352/ILS.2018.28.6.726>
- [11] Y. J. Lee, H. J. Park, S. J. Cho, S. A. Park, M. L. Kim, "The Effect of Yulmu (*Coix lacryma-jobi* L.)-Sunsik on Obesity and Hyperlipidemia in Mice Fed High-Fat Diet", *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol.50, No.7, pp.664-671, July. 2021.
DOI: <https://doi.org/10.3746/jkfn.2021.50.7.664>
- [12] S. M. Park, Y. K. Kim, S. Yu, S. W. Cho, M. H. Lee, et al., "Effects of *Valeriana Radix et Rhizoma* Methanol Extract on High-fat Diet-induced Hyperlipidemic Mice", *Journal of Korean Medicine for Obesity Research*, Vol.20, No.2, pp.88-96, Nov. 2020.
DOI: <https://doi.org/10.15429/jkomor.2020.20.2.88>
- [13] J. W. Kim, H. S. Doo, T. H. Kwon, Y. S. Kim, D. H. Shin, "Quality characteristics of doenjang meju fermented with *Aspergillus* species and *Bacillus subtilis* during fermentation", *Korean Journal of Food Preservation*, Vol.18, No.3, pp.397-406, June. 2011.
DOI: <https://doi.org/10.11002/kjfp.2011.18.3.397>
- [14] M. J. Cho, J. M. Shim, J. Y. Lee, K. W. Lee, Z. Yao, et al., "Properties of meju fermented with multiple starters", *Microbiology and Biotechnology Letters*, Vol.44, No.2, pp.109-116, Mar. 2016.
DOI: <https://doi.org/10.4014/mbl.1512.12009>
- [15] S. Y. Lee, N. Y. Park, J. Y. Kim, H. S. Choi, "Quality Characteristics of Rice-doenjang during Fermentation by Differently Shaped Meju and Adding Starter", *The Korean Journal of Food And Nutrition*, Vol.25, No.3, pp.505-512, Sep. 2012.
DOI: <https://doi.org/10.9799/ksfan.2012.25.3.505>
- [16] K. O. Jung, S. Y. Park, K. Y. Park, "Longer aging time increases the anticancer and antimetastatic properties of doenjang", *Nutrition*, Vol.22, No.5, pp.539-545, Nov. 2006.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nut.2005.11.007>
- [17] E. J. Jeong, H. S. Yoon, I. J. Kim, S. T. Hong, S. Y. Kim, et al., "Quality characteristics of whole soybean meju doenjang prepared with addition times and starter contents", *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol.47, No.11, pp.1159-1168, Nov. 2018.
DOI: <https://doi.org/10.3746/jkfn.2018.47.11.1159>
- [18] K. Y. Park, "Destruction of aflatoxins during the manufacture of doenjang by traditional method and cancer preventive effects of doenjang", *Journal of Korean Association of Cancer Prevention*, Vol.2, No.1, pp.27-37, Mar. 1997.
- [19] Y. E. Song, H. A. Han, S. Y. Lee, S. H. Shin, S. R. Choi, et al., "Quality characteristics and antioxidant activity of regional traditional soybean pastes (Deonjang) in Jeonbuk province", *The Korean Journal of Food And Nutrition*, Vol.32, No.6, pp.598-610, Dec. 2019.
DOI: <https://doi.org/10.9799/ksfan.2019.32.6.598>
- [20] C. R. Bae, D. Y. Kwon, Y. S. Cha, "Anti-obesity effects of salted and unsalted Doenjang supplementation in C57BL/6J mice fed with high fat diet", *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol.42, No.7, pp.1036-1042, July. 2013.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3746/jkfn.2013.42.7.1036>
- [21] K. Y. Park, "Increased health functionality of fermented foods", *Food Industry and Nutrition*, Vol.17, No.1, pp.1-8, June. 2012.
- [22] Y. H. Pyo, "Effect of Monascus-fermentation on the content of GABA and free amino acids in soybean", *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol.37, No.9, pp.1208-1213, Sep. 2008.
DOI: <https://doi.org/10.3746/jkfn.2008.37.9.1208>
- [23] C. E. Hwang, K. M. Cho, O. S. Joo, "Diversity of *Bacillus* groups isolated from fermented soybean foods ('Doenjang' and 'Kanjang') and their fermentation characteristics of 'Cheonggukjang'", *Korean Journal of Food Preservation*, Vol.27, No.7, pp.946-958, Oct. 2020.
DOI: <https://doi.org/10.11002/kjfp.2020.27.7.946>
- [24] M. S. Ryu, H. J. Yang, J. W. Kim, S. J. Jeong, S. Y. Jeong, et al., "Potential probiotics activity of *Bacillus* spp. from traditional soybean pastes and fermentation characteristics of Cheonggukjang", *Korean Journal of Food Preservation*, Vol.24, No.8, pp.1168-1179, Dec. 2017.
DOI: <https://doi.org/10.11002/kjfp.2017.24.8.1168>
- [25] J. S. Park, H. W. Lee, Y. S. Seo, E. J. Yang, "Quality characteristics of anchovy-Meju fermented with *Bacillus velezensis* L2", *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol.49, No.9, pp.1000-1008, Sep. 2020.
DOI: <https://doi.org/10.3746/jkfn.2020.49.9.1000>

- [26] H. Jeon, S. J. Oh, H. S. Nam, Y. S. Song, K. C. Choi, "Reduction of plasma triglycerides and cholesterol in high fat diet-induced hyper-lipidemic mice by n-3 fatty acid from bokbunja (*Rubus coreanus* Miquel) seed oil", *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol.44, No.7, pp.961-969, Jul. 2015.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3746/jkfn.2015.44.7.96>
- [27] K. H. Im, S. A. Baek, J. Choi, T. S. Lee, "Anti-hyperlipidemic and anti-obesity effects of *Sparassis latifolia* fruiting bodies in high-fat and cholesterol-diet-induced hyperlipidemic rats", *Journal of Mushroom*, Vol.19, No.1, pp.23-32, Mar. 2021.
DOI: <https://doi.org/10.14480/JM.2021.19.1.23>
- [28] A. W. Alberts, "Discovery, biochemistry and biology of lovastatin", *The American journal of cardiology*, Vol.62, No.15, pp.J10-J15, Apr. 1988
DOI: [https://doi.org/10.1016/0002-9149\(88\)90002-1](https://doi.org/10.1016/0002-9149(88)90002-1)
- [29] Y. H. Kim, K. I. Han, M. Jeon, S. G. Hwang, E. G. Jung, et al., "Antihyperlipidemic activities of a chemically engineered sulfated mushroom β -glucan on high fat dietary-induced hyperlipidemia in sprague-dawley rats", *Journal of Life Science*, Vol.24, No.11, pp.1209-1216, Nov. 2014.
DOI: <https://doi.org/10.5352/ILS.2014.24.11.1209>
- [30] Y. S. Kim, E. A. Jung, J. C. Chang, H. K. Yang, G. H. Cho, H. S. Bae, N. J. Kim, "Effect of daewhang-whangryunhaedok-tang on hyperlipidemia", *Korean Journal of Pharmacognosy*, Vol.32, No.2, pp.145-152, Jun. 2001.
- [31] FDA Guidance for Industry, Estimating the maximum safe starting dose in initial clinical trials for therapeutics in adult healthy volunteers, p.25, FDA, 2005, pp.1-27.
- [32] H. T. Kim, Y. S. Kim, I. C. Seol, H. R. Yoo, "The Effects of an Extract of *Artemisiae Capillaris*, *Curcumae Longae*, and *Crataegi Fructus* (IUS) on Anti-hyperlipidemia and Anti-oxidation in db/db Mouse Model", *Journal of Internal Korean Medicine*, Vol.37, No.3, pp.467-483, Jun. 2016.
- [33] G. Hornstra, E. Christ-Hazelhof, E. Haddeman, F. Ten Hoor, D. Nugteren, "Fish oil feeding lowers thromboxane-and prostacyclin production by rat platelets and aorta and does not result in the formation of prostaglandin I₃", *Prostaglandins*, Vol.21, No.5, pp.727-738, Dec. 1981.
DOI: [https://doi.org/10.1016/0090-6980\(81\)90230-6](https://doi.org/10.1016/0090-6980(81)90230-6)
- [34] S. H. Park, K. J. Park, J. K. Kim, "The effects of *Mume Fructus* extracts on blood flow improvement", *Yakhak Hoeji*, Vol.53, No.5, pp.298-302, Oct. 2009.
- [35] J. H. Lee, H. J. Park, "Effects of lipophilic fraction from Korean red ginseng on platelet aggregation and blood coagulation in rats fed with corn oil and beeftallow diet", *Korean Journal of Ginseng Science*, Vol.19, No.3, pp.206-211, Oct. 1995.
- [36] H. E. Park, K. H. Do, J. W. Jeong, Y. H. Jung, W. K. Lee, "Cholesterol and Visceral Fat Lowering Effects of Combined Lactic Acid Bacteria (*Lactobacillus casei* WK3, *Enterococcus faecium* WK5, *Bifidobacterium longum* WK9, and *Lactobacillus plantarum* K-1) in High Fat Diet-Fed C57BL/6J Mice", *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol.47, No.12, pp.1210-1216, Dec. 2018.
DOI: <https://doi.org/10.3746/jkfn.2018.47.12.1210>
- [37] A. K. Lim, H. K. Jung, J. H. Hong, J. S. Oh, J. H. Kwak, et al., "Effects of the soybean powder with rich aglycone isoflavone on lipid metabolism and antioxidative activities in hyperlipidemic rats", *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol.37, No.3, pp.302-308, Mar. 2008.
DOI: <https://doi.org/10.3746/jkfn.2008.37.3.302>
- [38] S. H. Kim, S. A. Kang, "Anti-Obesity Effect of Soybean Fermented with *Monascus* in High-Fat Diet Induced Obese Mice Model", *Journal of the East Asian Society of Dietary Life*, Vol.31, No.5, pp.333-343, Oct. 2021.
DOI: <http://dx.doi.org/10.17495/easdl.2021.10.31.5.333>
- [39] Y. R. Nam, Y. E. Ko, S. Y. Ly, "Anti-obesity and LDL-cholesterol lowering effects of silkworm hemolymph in C57BL/6N mice fed high fat diet", *Journal of Nutrition and Health*, Vol.51, No.3, pp.201-207, June. 2018.
DOI: <https://doi.org/10.4163/inh.2018.51.3.201>
- [40] Y. Lee, J. H. Park, E. Park, "Effect of Sulgidduk containing pine needle juice on lipid metabolism in high fat-cholesterol diet induced dyslipidemic rats", *Journal of Nutrition and Health*, Vol.52, No.1, pp.6-16, Jan. 2019.
DOI: <http://dx.doi.org/10.4163/inh.2019.52.1.6>
- [41] H. Imano, H. Noda, A. Kitamura, S. Sato, M. Kiyama, et al., "Low-density lipoprotein cholesterol and risk of coronary heart disease among Japanese men and women: the Circulatory Risk in Communities Study (CIRCS)", *Preventive medicine*, Vol.52, No.5, pp.381-386, May. 2011.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ypmed.2011.02.019>
- [42] Y. L. Zhang, M. Z. Xi, Y. B. Choi, B. H. Lee, "Antithrombotic effect of fermented *Ophiopogon japonicus* in thrombosis-induced rat models", *Journal of Medicinal Food*, Vol.20, No.7, pp.637-645, July. 2017.
DOI: <https://doi.org/10.1089/jmf.2016.3872>
- [43] M. J. Kuijpers, P. E. van der Meijden, M. A. Feijge, N. J. Mattheij, F. May, et al., "Factor XII regulates the pathological process of thrombus formation on ruptured plaques", *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, Vol.34, No.8, pp.1674-1680, May. 2014.
DOI: <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.114.303315>
- [44] B. Nieswandt, B. Aktas, A. Moers, U. J. H. Sachs, "Platelets in atherothrombosis: lessons from mouse models", *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, Vol.3, No.8, pp.1725-1736, Aug. 2005.
DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2005.01488.x>

- [45] S. Lee, H. J. Lee, Y. S. Chun, D. j. Seol, J. K. Kim, et al., "Anti-obese and Blood Flow Improvement Activities of Ginseng Berry on the 45% Kcal High Fat Diet Supplied Mouse", *Journal of Society of Preventive Korean Medicine*, Vol.22, No.1, pp.107-127, Apr. 2018.
DOI: <https://doi.org/10.25153/spkom.2018.22.1.009>
- [46] Y. N. Han, S. K. Baik, T. H. Kim, B. H. Han, "Antithrombotic activities of saponins from *llex pubescens*", *Archives of pharmacol research*, Vol.10, No.2, pp.115-120, June. 1987.
DOI: <https://doi.org/10.1007/BF02857777>
- [47] K. H. L. Q. Sang, J. Levenson, J. L. Megnier, A. Simon, M. A. Devynck, "Platelet cytosolic Ca^{2+} and membrane dynamics in patients with primary hypercholesterolemia: effects of pravastatin", *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, Vol.15, No.6, pp.759-764, June. 1995.
DOI: <https://doi.org/10.1161/01.ATV.15.6.759>
- [48] S. G. Lee, H. J. Kim, N. K. Im, E. J. Lee, S. P. Lee, et al., "Antithrombotic and cholesterol reduction effects of defatted soybean grits fermented by *Bacillus subtilis* NUC1", *Korean Journal of Food Science and Technology*, Vol.41, No.4, pp.423-427, Aug. 2009.
- [49] G. Diminno, M. J. Silver, "Mouse antithrombotic assay: a simple method for the evaluation of antithrombotic agents in vivo. Potentiation of antithrombotic activity by ethyl alcohol", *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, Vol.225, No.1, pp.57-60, Apr. 1983.
- [50] B. K. Lee, D. S. Lee, S. Ha, S. W. Park, Y. S. Jung, "Anti-platelet effects of mixtures of onion and aloe extract", *Yakhak Hoeji*, Vol.58, No.5, pp.322-327, Oct. 2014.

김진솔(Jin-Sol Kim)

[준회원]



- 2017년 2월 : 조선대학교 생명과학과 (이학사)
- 2019년 2월 : 조선대학교 일반대학원 생명과학과 (이학석사)
- 2019년 4월 ~ 현재 : 조선대학교 자연과학대학 생명과학과 연구원

<관심분야>

식물생리, 분자생물

정준한(Jun-Han Jeong)

[준회원]



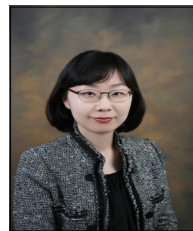
- 2020년 2월 : 조선대학교 생명과학과 (이학사)
- 2020년 3월 ~ 현재 : 조선대학교 일반대학원 생명과학과 (석사과정)

<관심분야>

식물생리, 분자생물

양은주(Eun Ju Yang)

[정회원]



- 2008년 2월 : 조선대학교 식품영양학과 (이학박사)
- 2010년 9월 ~ 2012년 1월 : 조선대학교 산학협력단 연구교수
- 2012년 2월 ~ 현재 : (재)전남바이오산업진흥원 식품산업연구센터 연구개발팀장

<관심분야>

식품공학, 기능성식품

이호우(Ho Woo Lee)

[정회원]



- 2008년 2월 : 서울산업대 식품공학과 (공학석사)
- 2004년 9월 ~ 2009년 9월 : 서울たく 연구개발팀
- 2009년 10월 ~ 2015년 1월 : CJ제일제당 식품연구소
- 2015년 2월 ~ 현재 : 청우F&B 식품연구소 연구소장

<관심분야>

식품공학, 기능성식품

이 현 화(Hyun-Hwa Lee)

[정회원]



- 1998년 2월 : 조선대학교 일반대학원 생물학과 (이학석사)
- 2002년 8월 : 조선대학교 일반대학원 생물학과 (이학박사)
- 2006년 3월 ~ 현재 : 조선대학교 생명과학과 교수

〈관심분야〉

식물생리, 분자생물