

콩 종류와 대두 가공식품에 함유된 isoflavone의 정량

김정숙 · 이영선 · 김진숙 · 한영희*
한국한의학연구원, *상명대학교 화학과

High Performance Liquid Chromatographic Analysis of Isoflavones in Soybean Foods

Chungsook Kim, Young-Sun Lee, Jin-Sook Kim and Younghée Hahn*
Department of Herbal Medicine, Korea Institute of Oriental Medicine,
**Department of Chemistry, Sangmyung University*

Abstract

Phytoestrogen has been used as a supplement of estrogen in order to treat osteoporosis. The representative phytoestrogens, isoflavones, are daidzein, genistein and formononetin which were present highly in our traditional soybean foods. The quantitative analysis of the isoflavone was done with a high performance liquid chromatography(HPLC) using a UV/VIS detector for the contents of the isoflavones in Astragalus Radix, soybean sprouts, bean-curd(Tofu), soybean, soybean oil, pea, kidney pea, black bean(*Yak-kong*), soybean sauce(*Ganjang*), soybean paste(*Doenjang*), and fermented soybean(*Maejoo*). The content of free daidzein in soybean sprouts was 43.49 ± 3.41 mg/kg which was much higher than that in soybean, 14.52 ± 0.58 mg/kg, although total daidzein of fermented soybean was lower than that in soybean (Table 2, $P < 0.01$). The amounts of free genistein in soybean sprouts, fermented soybean, and soybean paste were 27.63 ± 1.66 mg/kg, 291.52 ± 6.81 mg/kg, and 18.75 ± 1.33 mg/kg, respectively. The level of free formononetin in soybean paste was the highest among the soybean products ($P < 0.01$). The content of formononetin in Astragalus Radix, 9629.79 ± 0.57 μ g/kg, was about 160 times higher than that in soybean. Thus Korean traditional soybean products, black bean(*Yak-kong*) and Astragalus Radix can be a good choice of phytoestrogens.

key words : isoflavone, genistein, daidzein, formononetin, HPLC

서 론

콩은 중국 또는 우리나라가 원산지인 한해살이 식물로 곡류 위주의 식습관을 지닌 우리 나라 사람들에게 직접 또는 간접적인 형태인 두부, 장류, 콩나물 등으로 다양하게 이용되고 있는 영양 식품이다. 또한 콩에 함유된 여러 성분들이 고혈압 방지 효과, 항 돌연변이성, 항암성, 혈전 용해기능 등 각종 생리활성이 있다고 알려져 왔다. 최근 보고에 의하면 콩에는 에스트로겐과 유사한 작용을 하는 phytoestrogen이 다량 함유되어 있다⁽¹⁻³⁾. Phytoestrogen은 동물사료에 의한 불임동물의 생성으로 발견하게 된 것으로^(4,5) 알파파(alfalfa), 완두콩, 오트밀, 팔, 대두 및 쌀 등 많은 곡식물에 함유되어 있으며⁽¹⁻²⁾, isoflavone계 phytoestrogen은 콩과

(Leguminosae)에 특히 많이 함유되어 있다. Daidzein, genistein, formononetin 등이 이에 속하며 많은 동물실험이나 in vitro 실험에서 암세포의 성장을 억제한다는 보고⁽⁶⁾도 있으나 이들 중 daidzein과 genistein은 에스트로겐 보다 친화력은 낮지만 에스트로겐 수용체에 결합하여 에스트로겐의 대체물질로 각광을 받고 있다⁽⁷⁻¹¹⁾. Formononetin은 에스트로겐 수용체에 대한 친화력이 다른 phytoestrogen들 보다 낮고 자궁내선암세포에 대한 상대적인 독성이 에스트로겐에 비해 약 1/10,000배 정도로 낮아 자궁비대를 유발하는 등의 독성이 약하다⁽⁴⁾. 현재 미국에서는 콩류를 섭취한 사람의 뇨 혹은 혈중에 함유된 phytoestrogen의 농도를 정량하여 골다공증과의 연관성에 대한 연구를 진행하고 있다. 본 연구는 골다공증 연구의 일환으로 estrogen의 대체약이 될 수 있는 여러 식품에 함유된 phytoestrogen의 정량에 초점을 두었으며 골다공증은 수십년에 걸쳐 나타나는 만성질환이므로 매일의 식단에서 그 예

방책을 찾고자 본 연구를 시작하였다.

그래서 본 연구에서는 국내에서 소비가 많고 우리의 식생활과 매우 밀접한 관계가 있는 콩류로 강남콩, 완두콩, 약콩, 대두와 대두 가공 식품인 된장, 간장, 두부, 콩나물 등을 사용하여 isoflavone인 daidzein, genistein, formononetin 등의 함량을 HPLC를 이용하여 정량하였다. Isoflavone 정량분석에 앞서 상품화 되지 않은 formononetin은 다른 식물(*Trifolium subterraneum* var. Dwalganup 등)에도 많이 존재하고 있으나^(2,4) 대두와 같은 콩과 식물에 속하는 한약재로 가장 흔히 사용되고, 대한약전⁽¹⁶⁾에 formononetin이 지표물질로 검토되고 있는 황기(*Astragalus membranaceus* Bunge.: Astragali Radix)에서 분리 정제하여 사용하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

황기(*Astragalus membranaceus* Bunge.: Astragali Radix)는 강원도 정선군에서 재배된 것을 사용하였고 (표본번호 KIOM 96-3-0001), 콩나물은 찬마루식품(충북 음성군), 두부는 찬마루 식품(충북 괴산), 콩기름은 신동방(주)(인천시 서구), 간장은 귀빈식품(전남 해남), 된장은 명가식품(충북 괴산)에서 1998년도에 제조한 것을 사용하였다. 또 매주, 완두콩, 강남콩, 대두, 약콩 등은 국내산으로 시장에서 구입하여 사용하였다.

표준물질로는 aloë-emodin, genistein, daidzein(Sigma Chem. Co., St. Louis, MO, U.S.A.)을 사용하였으며, formononetin은 본 연구팀이 황기에서 추출 정제하여 NMR, MS로 확인한 후에 사용하였다⁽¹⁵⁾. HPLC용 용매로 메탄올은 Merck Co.(Darmstadt, Germany)의 제품을 사용하였고, 기타 추출과 정제할 때 사용한 용매인 에탄올, 메탄올 등은 일등급을 중류하여 사용하였으며 그외의 시약들은 시약용 시약들을 사용하였다.

HPLC 분석 및 검량곡선

이소플라본의 정량 분석에 사용된 HPLC는 spectra system P1000 (Thermo Separation Products, Fremont, CA, U.S.A.)를 사용하였고, Column은 Phenomenex Co. (Torrance, CA, U.S.A.)의 Spherex5 C18 (250×4.60 mm; 5 μ)와 prodigy 5 μ ODS (30×4.60 mm)을 사용하였다. 이동상은 여러 연구자들의 연구보고^(11,12,13,14)를 참조하여 이동상의 조건을 변형하고 분리도가 가장 좋은 5 mM NaH₂PO₄용액(pH 4.6)과 메탄올의 혼합액(4:6)을 사용하였고, 유속은 1 mL/min로 정하였고 formononetin(0.5 μg/mL)의 분광 광도계에서 흡광도가

최대인 260 nm에서 분석하였다. 내부 표준물질의 선택은 앞의 이동상에서 formononetin의 머무름 시간(retention time)과 꼬리끌림(tailing)과 실험 시료 중에 존재하는 다른 물질들의 머무름 시간이 내부 표준물질의 머무름 시간과 겹치는 것이 있는지를 고려하여 가능성이 있는 여러 가지 물질들을 선택하여 확인한 후 내부 표준물질로 aloë-emodin을 선택하여 사용하였다.

각각의 daidzein(0.051~213.71 μg/mL), genistein(0.056~194.20 μg/mL), 및 formononetin(0.025~5.00 μg /mL)을 메탄올로 여러 농도로 희석하여 내부표준물질인 aloë-emodin(4 μg/mL)을 동량 첨가하여 상동액 20 μL씩을 HPLC에 주입하여 각각의 크로마토그램을 얻었다. 표준검량 곡선은 daidzein, genistein, formononetin의 여러농도에서 이들의 피크들의 높이를 각각 내부 표준물질의 피크 높이에 대한 비율(peak height ratio)로 계산하여 작성하였다. 이들에 대한 검량곡선식 및 상관계수는 SigmaPlot[®] 프로그램(Jandel Scientific, Chicago, IL, U.S.A.)에 의하여 작성하였다.

시료의 추출

콩나물, 두부, 대두, 강남콩, 약콩, 된장, 매주를 냉동 전조한 후 각각 50 g씩 취하여 500 mL 각각 70% 메탄올 용액에 2일 동안 상온에서 교반하면서 1회 추출하고 추출물을 건조하였다. 그러나 간장은 50 mL를 전조시킨 후 위와 동일한 방법으로 추출하였고 콩기름은 0.3 g을 그대로 취하였다.

콩식품에 함유된 isoflavone의 정량분석

콩식품의 유리된 isoflavone의 함량분석은 위 시료의 추출에서 나타낸 바와 같이 대두, 콩기름, 강남콩, 약콩, 콩나물, 두부, 된장, 매주, 완두콩의 70% 메탄올 추출 전조 잔사 0.3 g을 각각 취하여 600 μL의 이동상에 녹인 후, 내부표준물질 (4 μg/mL)을 가하고 14,000 rpm, 4°C에서 20분간 원심분리한 후 (Eppendorf model 5402, Hamburg, Germany), 그 상동액을 여과하고 (0.45 μm, Minisart RC 4, Sartorius, Gottingen, Germany) 그 여액을 위의 HPLC 조건에서 분석하였다. 또한 각 시료의 메탄올 전조 잔사 0.3 g을 취하고 1 M HCl 2 mL를 첨가하여 100°C에서 2시간 동안 가수분해한 후 40°C에서 질소가스로 건조시켰다. 이 건조 잔사에 600 μL의 이동상을 가하여 녹인 후, 위의 유리 isoflavone의 함량분석법과 동일한 방법으로 HPLC 분석을 행하였으며 이 isoflavone 함량을 총량으로 나타내었다. 동시에 표준품 isoflavone으로 이들의 추출

회수율을 계산하여 보정하였다.

각군 사이의 통계처리는 대두를 기준으로 다중분석법 중에서 Bonferroni Multiple Comparisons법에 의해 $P<0.05$ 인 것을 통계적으로 의미가 있다고 정의하였다⁽¹⁷⁾.

결과 및 고찰

시료의 추출

시료들 중에서 된장, 두부 및 콩나물의 냉동 전조 후, 전조량은 총량의 각각 $41.85 \pm 0.20\%$, $17.28 \pm 0.03\%$, 및 $11.25 \pm 1.57\%$ 이었다. 또한 간장은 50 mL를 전조하여 전조잔사 $19.90 \pm 0.07\%$ 를 얻었다.

각 시료의 메탄올 추출물의 수획율(yield)은 Table 1에 나타난 바와 같다. 특히 간장은 소금의 함량이 상당히 높아서 추출에 어려움이 있었기에 100% 메탄올로 추출하여 사용하였다.

Table 1. The Recovery yield of extraction

Name	Dry wt. (% of wet wt.)	Extract wt. (Mean \pm SE : g/50 g dried sample)
Soybean	-	5.01 ± 0.45
Kidney pea	-	3.57 ± 0.12
Black bean(Yak-Kong)	-	3.43 ± 0.16
Soybean sprouts	6.25 ± 1.57	6.13 ± 0.11
Bean-curd	17.28 ± 0.03	2.60 ± 0.03
Soybean sauce	19.90 ± 0.07	ND ¹⁾
Soybean paste	41.85 ± 0.20	30.68 ± 0.81
Fermented soybeans	-	7.14 ± 1.44

¹⁾ND means not detected

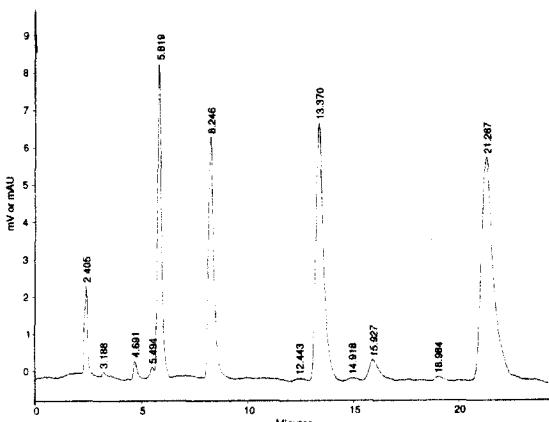


Fig. 1. A representative HPLC chromatogram of daidzein, genistein, formononetin and aloe-emodin. The retention times are 5.82 min for daidzein, 8.25 min for genistein, 13.37 min for formononetin and 21.27 min for an internal standard, aloe-emodin.

Daidzein, genistein, formononetin의 검량곡선

Daidzein, genistein, formononetin 및 내부표준물질인 aloe-emodin의 머무름 시간은 Fig. 1에 나타난 바와 같이 5.82분, 8.25분, 13.37분 및 21.27분이었다. 또한 각 시료에 함유된 isoflavone들의 HPLC 피크의 확인은 표준품을 이용하여 확인하였다. 이들의 표준검량 곡선은 Fig. 2와 같이 각 표준물질의 농도에서의 피크의 높이를 내부 표준물질의 피크 높이에 대한 비율(peak height ratio)로 계산하여 작성하였으며 상관계수(correlation coefficient)는 각각 $r^2 = 0.99$ ($P < 0.001$) 이상이었다. 위의 HPLC 조건에서 daidzein과 genistein의 검출한계($UV_{260\text{nm}}$)는 50 ng/mL이었고, formononetin의 검출한계($UV_{260\text{nm}}$)는 25 ng/mL으로 분석되었다.

콩식물에 함유된 isoflavone의 정량분석

완두콩, 강남콩, 대두, 약콩과 대두 가공식품인 콩나물, 두부, 콩기름, 간장, 된장, 메주 등에 함유된 daidzein, genistein, formononetin의 함량은 Table 2에서 보는 바와 같다. 콩식품에 함유된 isoflavone 중 유리 daidzein의 함량은 된장에 233.37 ± 5.81 mg/kg으로 가장 많고, 콩나물에 43.49 ± 3.41 mg/kg, 약콩에 35.66 ± 4.70 mg/kg이 함유되어 대두(14.52 ± 0.58 mg/kg)에 비해 높게 나타났으며, 콩기름(0.53 ± 0.08 mg/kg)과 간장(0.91 ± 0.01 mg/kg)은 대두보다 함량이 낮았다(Table 2; $P < 0.05$). 약콩의 총 daidzein의 함량(986.80 ± 66.56 mg/

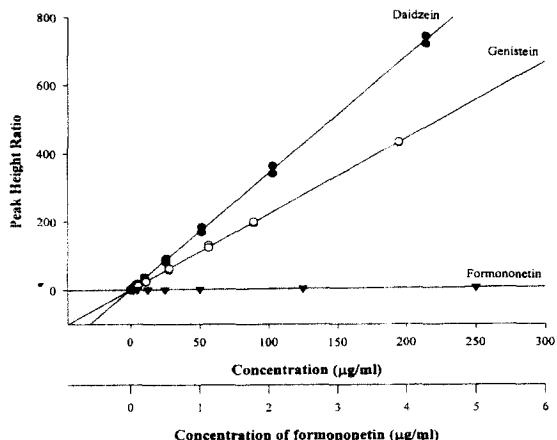


Fig. 2. Standard curves of isoflavone. Y axis represents peak height ratio of isoflavone to internal standard. X axis indicates concentration of isoflavone: daidzein(●), genistein(○), formononetin(▼) and aloe-emodin(4 μg/mL). These fitting equations are daidzein(●); $Y = -0.1649 + 3.4256X$, genistein(○); $Y = -0.4936 + 2.2316X$, and formononetin(▼); $Y = 0.00993 + 1.4796X$, ($r^2 = 0.999$, $P < 0.001$).

Table 2. Isoflavone concentrations in 70% Methanol Extract of soybean and its product¹⁾

Name	Daidzein (mg/kg)		Genistein (mg/kg)		Formononetin (μ g/kg)	
	Free	Total	Free	Total	Free	Total
Soybean sprouts	43.49 \pm 3.41**	254.90 \pm 25.37	27.63 \pm 1.66	103.40 \pm 19.52**	334.90 \pm 26.14**	574.46 \pm 82.47**
Bean-curd	4.51 \pm 0.06	136.89 \pm 19.00**	3.45 \pm 0.02*	4.48 \pm 0.57	6.57 \pm 0.10	59.59 \pm 9.00
Fermented soybean	25.34 \pm 1.77	106.33 \pm 21.51**	18.75 \pm 1.33*	31.53 \pm 5.47	20.55 \pm 4.08	434.65 \pm 51.64
Soybean paste	233.37 \pm 5.81**	362.85 \pm 5.22	291.52 \pm 6.81**	105.30 \pm 3.27**	248.18 \pm 8.34**	1055.40 \pm 92.33**
Soybean	14.52 \pm 0.58	341.47 \pm 18.96	22.49 \pm 0.93	30.03 \pm 7.17	60.62 \pm 11.35	161.27 \pm 46.77
Soybean sauce	0.91 \pm 0.01**	0.40 \pm 0.17**	2.80 \pm 0.01	20.80 \pm 0.06	81.50 \pm 4.20	45.97 \pm 16.75
Soybean oil	0.53 \pm 0.08**	ND ²⁾	3.31 \pm 0.18	ND	ND	ND
Blackbean (Yak-kong)	35.66 \pm 4.70*	986.80 \pm 66.56**	61.10 \pm 7.73**	235.84 \pm 23.63**	45.20 \pm 5.42	692.65 \pm 54.58**
Astragalus Radix	ND	ND	ND	ND	9629.79 \pm 0.57**	43529.67 \pm 3353.5**

¹⁾All data are Mean \pm SE.

*:P<0.05,

**:P<0.01 by Bonferroni Multiple Comparisons.

²⁾ND means no detection.

kg)은 대두의 총 함량(341.47 ± 18.96 mg/kg)보다 높았다($P<0.01$). 유리 genistein의 함량도 위와 유사하게 된 장에 291.52 ± 6.81 mg/kg으로 가장 많이 함유되어 있으며, 메주에 18.75 ± 1.33 mg/kg, 약콩에 61.10 ± 7.73 mg/kg⁶⁾이 함유되어 있었다(Table 2 ; $P<0.05$). 그러나 유리 formononetin의 함량은 daidzein, genistein과는 다른 양상을 보였고, 콩나물(334.90 ± 26.14 μ g/kg)의 formononetin의 함량은 대두(60.62 ± 11.35 μ g/kg)에 비해 높았고($P<0.01$), 약콩은 45.20 ± 5.42 μ g/kg이었으나 콩기름에서는 formononetin이 검출되지 않았다. 70% 메탄을 추출물을 가수분해하였을 때, isoflavone의 총 함량 중에서 genistein은 많은 경우에 유리된 형태로 존재하나 daidzein과 formononetin은 배당체등이 결합한 화합물의 형태로 많이 존재하였다(Table 2). 가수분해에 의한 이들의 회수율은 daidzein과 formononetin은 거의 회수되었으나($94 \pm 7.0\%$, $94 \pm 0.3\%$) genistein은 이 과정에서 많이 분해되어 회수율이 낮은 것으로 나타났다($67 \pm 2.6\%$).

현재까지 알려진 phytoestrogen의 분석방법들은 HPLC에 UV/VIS검출기^(5,6,12-14)나 전기화학검출기(Electrochemical detector : ECD)를 사용하였고⁽¹²⁾ 드물게는 형광검출기도 사용하였다^(6,14). 이외에 radioimmunoassay를 이용한 방법도 있었다⁽¹⁷⁾. 그러나 본 연구의 예비실험을 분석한 결과 UV/VIS검출기로 정량한 방법도 상당

히 안정된 연구결과를 나타내었으며 formononetin의 정량은 25 ng/mL까지 가능하였다(Fig. 1 및 Fig. 2). 또한 전기화학 검출기를 사용하여 정량분석을 시도하였으나 다른 보고⁽¹²⁾에서 발표한 내용과는 달리 formononetin의 경우에 glassy carbon을 작업전극으로 하여 1.2 V 이상에서 검출하여야 하며 바탕선이 안정되지 않았기에 UV/VIS검출기 만을 사용하여 분석하였다.

Pettersson과 Kiessling⁽¹⁴⁾은 UV와 형광검출기로 isoflavone의 검출한계는 10 ppm이고 HPLC-ECD법에 의한 분석은 이전의 방법보다는 검출한계가 100배나 증가하였다고 보고하였다⁽¹²⁾. 그러나 Franke 등⁽⁵⁾은 그 검출한계가 5~780 nM/20 μ L이었고 HPLC와 UV/VIS검출기로 분석한 phytoestrogen의 검출한계는⁽⁶⁾ 1.3~4.2 ng/mL이었으며 본 연구의 검출한계는 formononetin의 경우에 25 ng/mL이므로 다른 연구보고와 유사하였다.

현재까지 알려진 isoflavone 중의 phytoestrogen은 daidzein, genistein, biochanin A, formononetin, coumestrol등이 있으며 isoflavone류가 배당체로 많이 존재한다는 보고도 있으므로^(2,6,11), 본 연구에서는 70% 메탄을 추출액에서 먼저 유리상태의 isoflavone류를 정량하고 phytoestrogen을 추출한 시료를 가수분해하여 유리형이나 배당체와 결합형의 총량에 대한 정량분석을 행하였다. 대부분의 phytoestrogen 및 그 배당체들은 70% 메탄올에 추출된다는 보고도 있으나 천

연물에 함유된 성분들을 전량 추출하여 정량하는 것은 상당한 어려움이 있으므로 대두 및 가공식품의 각각에 최소한 3-6개의 시료를 추출하고 가능한 오차를 줄이기 위해 각 추출물을 3-4회씩 분석하여 평균값을 구하였다(Table 1, Table 2). 정량분석을 위해 HPLC의 각 피이크의 높이는 valley to valley를 피이크의 바탕 선으로 하여 계산하였다. 이 방법은 인접한 피이크의 영향으로 면적비율은 상대적으로 오차가 크지만 높이비율은 오차가 작기 때문에 피이크의 높이비율로 검량곡선을 작성하였다.

현재 발표된 보고에서는 daidzein이나 genistein 등은 대부분의 콩제품이나 콩종류에 함유되어 있으나 formononetin은 alfalfa sprouts 혹은 *Trifolium subterraneum* var. Dwalganup 등 일부 식물에 더 많이 함유된 것으로 알려졌다. 또한 일본식 두부와 일본식 된장 등에서는 formononetin의 존재가 확인되지 않았고 다만 daidzein이나 genistein의 존재만 확인 정량되었다. 이로써 본 연구에서는 특히 formononetin의 정량을 위해 이미 보고한 바와 같이 formononetin을 황기에서 추출, 분리, 정제, 확인하여 표준품으로 사용하였다⁽¹⁵⁾. 황기는 Table 2에서와 같이 formononetin이 다른 제품보다도 대량으로 존재하고 daidzein이나 genistein은 검출한계 이하였다. 특이한 사항은 전통식품인 메주, 된장, 콩나물에 함유된 phytoestrogen의 함량이 높았고 약콩의 formononetin 함량이 다른 콩에 비해 높았다. 또한 우리의 전통식품에 함유된 유리형 phytoestrogen의 함량이 높았는데, 이는 발효과정에서 배당체로 존재하던 isoflavone이 유리형으로 나타난 것인지 아니면 다른 전구물질에서 대사 또는 분해되어 함량이 높아진 것인지에 대한 연구가 필요하다고 사료된다.

한국의 대두 가공식품인 두부에 함유된 유리형의 daidzein 함량은 10~46 mg/kg, genistein은 6~31 mg/kg이며, 콩나물의 경우는 daidzein은 3~35 mg/kg, genistein은 2~44 mg/kg이고, 된장의 경우는 daidzein은 125~382 mg/kg, genistein은 155~496 mg/kg이며, 간장에 함유된 daidzein은 3~21 mg/kg, genistein은 1~9 mg/kg이었으나 일부 간장의 genistein은 측정치 이하였다⁽¹⁸⁾. 그러나 본 연구의 두부 및 된장의 유리 daidzein은 4.51±0.06 mg/kg과 233.37±5.81 mg/kg이었고, 유리 genistein은 3.45±0.02 mg/kg과 291.52±6.81 mg/kg으로 앞의 발표된 보고⁽¹⁸⁾와 유사한 결과를 나타내었다. Reinli와 Block⁽²⁾은 두부의 daidzein은 29~253 mg/kg(wet), genistein은 40~421 mg/kg(wet)으로 보고하였으나 본 연구에서는 이들의 총 함량인 136.89±19.00 mg/kg과 4.48±0.57 mg/kg으로 나타났다. 특히 본 연구에서 두부의 전조시료

는 젖은 두부의 17.28±0.03%에 불과하였으므로 Reinli와 Block⁽²⁾의 결과보다 phytoestrogen의 함량이 상당히 낮았으며 이는 두부에 사용된 대두의 종류가 다른데 기인한다고 추정된다⁽²⁰⁾. 간장의 경우 유리 daidzein은 0.91±0.01 mg/kg, genistein은 2.80±0.01 mg/kg으로 유사하였다(Table 2). 그러나 Franke등의 보고⁽⁶⁾에는 대두의 경우 daidzein은 676.4~1006.5 mg/kg(dry), genistein은 940.2~1382.4 mg/kg(dry)으로 보고하였는데 이는 본 연구에서 유리 daidzein은 14.52±0.58 mg/kg, 유리 genistein은 22.49±0.93 mg/kg이고 총량은 각각 341.47±18.96 mg/kg과 30.03±7.17 mg/kg으로 daidzein은 유사하나 genistein의 함량은 상대적으로 낮았다. 또한 Franke등⁽⁶⁾은 formononetin의 함량이 측정치 이하로 정량할 수 없었는데 본 연구에서는 Table 2에서와 같이 60.62±11.35 µg/kg로 측정할 수 있었으므로 이는 산지와 대두의 종류 등의 차이라고 설명할 수 있다. 또한 Franke등⁽⁶⁾은 강남콩과 완두콩의 isoflavone을 정량할 수 없었으며 본 연구에서도 검출한계 이하로 정량할 수 없었다. 그러므로 콩기름, 완두콩, 강남콩 등은 formononetin이 검출되지 않았고, 전통식품인 두부, 콩나물, 간장, 된장, 메주에는 formononetin을 비롯한 많은 phytoestrogen이 함유되어 있으며, 황기와 같은 한약재를 포함하여 이들 전통식품을 응용하여 폐경기에 나타나는 퇴행성 질환인 골다공증의 예방 및 치료에 기여할 수 있다고 사료된다.

요 약

콩에 함유되어 있는 이소플라본은 골다공증 예방 및 치료제로써의 활발한 연구가 진행중이다. 콩은 우리의 식생활과 깊은 관련성이 있으므로 이소플라본의 함량을 HPLC로 정량분석 하였다. 한국산 황기와 콩제품인 콩나물, 두부, 콩기름, 메주, 된장, 간장, 대두, 약콩, 완두콩 및 강남콩 등에서 함유된 isoflavone을 5 mM NaH₂PO₄ 완충용액(pH 4.6)과 메탄올을 혼합한 이동상(4:6)과 UV 260 nm에서 분석하였다(Table 2).

콩식품에 함유된 isoflavone 중 유리 daidzein의 양은 콩나물에서 43.49±3.41 mg/kg, 된장에서 233.37±5.81 mg/kg, 약콩은 35.66±4.70 mg/kg이 검출되어 대두(14.52±0.58 mg/kg)에 비해 높았다.(P<0.05) 간장 및 콩기름은 함량이 낮았고, 완두콩 및 강남콩의 함량은 측정치 이하였다. 유리 genistein은 콩나물이 27.63±1.66 mg/kg, 메주가 18.75±1.33 mg/kg, 된장이 291.52±6.81 mg/kg이 검출되었고, 대두는 22.49±0.93 mg/kg으로 약콩(61.10±7.73 mg/kg) 보다 낮았다(P<0.01). 그러나

formononetin의 함량은 daidzein, genistein과는 다른 양상을 보였으며, 특히 황기는 daidzein과 genistein은 검출되지 않았으나 formononetin의 함량이 대두($60.62 \pm 11.35 \mu\text{g}/\text{kg}$)에 비해 $9629.73 \pm 0.57 \mu\text{g}/\text{kg}$ 으로 약 160배 이상 많았고, 약콩은 대두와 유사하였으나, 콩기름, 완두콩, 강남콩에서는 formononetin이 검출되지 않았으며, 전통식품인 된장과 메주에도 상당량 함유되어 있었다.

감사의 글

본 연구는 보건복지부 지원으로 1998년도 한국한의학연구원의 한방의료기술개발연구의 일부와 보건의료기술연구개발사업(HMP-98-D-4-0043) 연구과제의 지원에 의해 수행되었기에 감사를 드립니다. 또한 본 연구에 도움을 주신 이제현박사님, 남봉현, 하혜경, 박진서 선생님들께 감사드립니다.

문 헌

1. Saloniemi, H., Wahala, K., Nykanen-Kurki, P., Kallela, K. and Saastamoinen, I. Phytoestrogen content and estrogenic effect of legume fodder. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 208(1): 13-17 (1995)
2. Reinli, K. and Block, G. Phytoestrogen content of foods-A compendium of literature values. Nutrition and Cancer 26(2): 123-148 (1996)
3. Dwyer, J.T., Goldin, B.R., Saul, N., Gaultier, L., Barakat, S. and Adlercreutz, H. Tofu and soy drinks contain phytoestrogens. J. Am. Diet. Assoc. 94(7): 739-743 (1994)
4. Wang, W., Tanaka, Y., Han, E. and Higuchi, C.M. Proliferative response of mammary glandular tissue to formononetin. Nutrition and Cancer 23(2): 131-140 (1995)
5. Franke, A.A., Custer, L.J., Cerna, C.M. and Narala, K. Rapid HPLC analysis of dietary phytoestrogens from legumes and from human urine. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 208: 18-26 (1995)
6. Franke, A.A., Custer, L.J., Cerna, C.M. and Narala, K. Quantitation of phytoestrogens in legumes by HPLC. J. Agric. Food Chem. 42: 1905-1913 (1994)
7. Pelissero, C., Bennetau, B., Babin, P., Le Menn, F. and Dunogues, J. The estrogenic activity of certain phytoestrogens in the Siberian sturgeon *Acipenser baeri*. J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 38(3): 293-299 (1991)
8. Welshons, W.V., Rottinghaus, G.E., Nonneman, D.J., Dolan-Timpe, M. and Ross, P.J. A sensitive bioassay for detection of dietary estrogens in animal feeds. J. Vet. Diag. Invest. 2(4): 268-273 (1990)
9. Miksicek, R.J. Interaction of naturally occurring non-steroidal estrogens with expressed recombinant human estrogen receptor. J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 49(2-3): 153-160 (1994)
10. Shyamala, G. and Ferenczy, A. Mammary fat pad may be a potential site for initiation of estrogen action in normal mouse mammary glands. Endocrinology 115(3): 1078-1081 (1984)
11. Bickoff, E.M., Livingston, A.L., Hendrickson, A.P. and Booth, A.N. Relative potencies of several estrogen-like compounds in forages. Agricultural and Food Chemistry 10(5): 410-412 (1962)
12. Setchell K.D.R., Welsh, M.B. and Lim, C.K. High performance liquid chromatographic analysis of Phytoestrogens in soy protein preparations with ultraviolet, electrochemical and thermospray mass spectrometric detection. J. Chromatogr. 386: 315-335 (1987)
13. Franke, A.A. and Custer, L.J. High performance liquid chromatographic assay of isoflavonoids and coumestrol from human urine. J. Chromatogr. B. 662: 47-60 (1994)
14. Pettersson, H. and Kiessling, K.H. Liquid chromatographic determination of the plant estrogens coumestrol and isoflavones in animal feed. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 67(3): 503-506 (1984)
15. Kim, J.S. and Kim, C. A Study on the Constituents from the roots of *Astragalus membranaceus* (II). Kor. J. Pharmacogn. 28(2): 75-79 (1997)
16. Chi, H.J., Lee, S.I., Ahn, D.K., Lee, K.S., Lee, S.Y., and Lee, Y.J. *Astragalus* Root. Korean Pharmacopoeia and Korean Herbal Pharmacopoeia 2nd ed., Korea Medical Index Co., Seoul, pp. 688-690 (1998).
17. Wang, W. Radioimmunoassay determination of formononetin in murine plasma and mammary glandular tissue. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 217(3): 281-287 (1998)
18. Choi, Y.B. and Sohn, H.S. Isoflavone content in Korean fermented and unfermented soybean foods. Korean J. Food Sci. Technol. 30(4): 745-750 (1998)
19. Rosner, B. Fundamentals of Biostatistics, PWS-Kent Co., Boston (1990)
20. Choi, J.S., Kwon, T.W. and Kim, J.S. Isoflavone contents in some varieties of Soybean. Foods and Biotechnology 5(2): 167-169(1996).

(1999년 7월 13일 접수)