

## 당근추출물이 난소를 절제한 흰쥐의 혈중지질 및 항산화효소 활성에 미치는 영향

김미향\* · 하배진<sup>1</sup> · 배송자

신라대학교 식품영양학과, <sup>1</sup>화학과

### The Effects of *Daucus carota L.* Extracts on Serum Lipid and Antioxidative Enzyme Activity in Ovariectomized Rats

Mi-Hyang Kim<sup>†</sup>, Bae-Jin Ha<sup>1</sup> and Song-Ja Bae

Department of Food Science and Nutrition and <sup>1</sup>Major in New Materials Chemistry,  
Silla University, Pusan 617-736, Korea

#### Abstract

The purpose of this study was to investigate whether the extracts of *Daucus carota L.* could lead to a beneficial outcomes on serum lipid and antioxidative enzyme activity in ovariectomized rats. Sprague-Dawley rats were randomly assigned to one control and three diet groups; carrot seed, carrot root and estrogen after ovariectomy operation. Experimental diets were fed for 8 weeks. The GOT activity was decreased in the carrot extracts treated group than in the control group. The carrot seed extracts treated group showed the lowest SOD and catalase activities compare to other groups. Serum total cholesterol and LDL cholesterol decreased in the carrot seed extracts group than in the control group. From these results, it suggest that carrot seed extracts positively influenced on serum lipid and antioxidative enzyme activity.

**Key words** – *Daucus carota L.*, carrot seed, carrot root, estrogen, ovariectomy, GOT, GPT, antioxidative enzyme activity, cholesterol

#### 서 론

근래, 식품이 갖는 건강 기능성에 대한 관심이 높아지고, 그 유효 성분의 해명이 진전되고 있다. 당근(*Daucus carota L.*)은 미나리과에 속하며 항암 작용, 혈압강하 작용, 조혈작용, 혈당강하 작용을 하고, 점막의 저항력을 길러 천식과 위궤양을 미리 막아주고 몸을 따뜻하게 하여 혈액 순환을 원활하게 한다고 알려져 있다[18]. 이러한 당근 중의 생리

활성 물질은 주로  $\beta$ -carotene으로 알려져 있으나, 그 외 식물성 호르몬인 phytoestrogen의 존재도 확인되고 있다[30].

천연식품 중의 phytoestrogen은 인체에 장애작용을 하는 것보다는 생식호르몬 유사물로 알려져 있으며, 폐경기 이후의 여성에게 estrogen 대체 작용을 할 수 있다는 것이 보고되고 있다[26,29]. 식물성 estrogen의 생리 활성은 각각 시험관내(*in vitro*), 동물시험(*in vivo*), 인체실험 및 역학적 고찰 등에 의해서 심도 있게 연구되어지고 있으나, 이들이 해로운 것인가 혹은 이로운 것인가는 여러 복합적인 이유에서 확실한 결론은 내리지 못하고 있는 실정이나 일부

\*To whom all correspondence should be addressed

Tel : 051- 309-5620, Fax : 051-309-5620

E-mail : mihkim@silla.ac.kr

보고된 자료에서는 유효생리 활성물질이라고 일컬기도 한다[3,10,16,17,20].

순환기계 질환은 우리 나라 사망원인 중 제 1 순위를 차지하고 있는데, 그 발생률이 계속 증가하리라는 예측과 함께 그에 대한 관심 또한 더욱 높아지고 있다[1]. 순환기계 질환의 발생과 관련된 위험인자로는 고지혈증, 고혈압, 흡연, 운동부족, 비만 등 여러 가지이나 성별에 따른 차이도 있다[2,28]. 일반적으로 폐경기 이전 여성들의 관상동맥질환 발생률은 남성에 비해 매우 낮은 것으로 보고되어 왔으나, 자연적 혹은 수술에 의해 폐경이 된 여성들에서는 그 발생률이 급격히 상승하여 남성 환자에 비해 좋지 않은 증상을 나타내는 것으로 알려져 있다[11,19,25]. 이것은 폐경으로 인하여 난소에서의 estrogen 합성이 저하되어 혈청지질대사에 변화를 일으키는 것과 관련이 있는 것으로 추측할 수 있다. 따라서 폐경 후 여성들에게 외인성 estrogen을 공급하는 호르몬 대체요법의 중요성이 부각되었으나 외인성 estrogen의 공급은 자궁내막의 종양 발생률을 증가시킬 가능성이 있어 논란이 되고 있다[12,15]. 최근, 우리 나라는 동물성지방 섭취의 증가와 아울러 성인의 평균 혈청 cholesterol과 triglyceride(TG) 농도가 증가하는 추세에 있어서 그에 따라 순환기계 질환의 원인이 되는 고지혈증의 발생증가가 우려되고, 특히, 폐경 후 여성의 경우에는 estrogen의 분비 중지라는 생리적 변화 요인이 참가됨으로써 고지혈증 발생의 위험은 다른 어느 연령층보다도 크다고 할 수 있다. 또한, 폐경 이후 estrogen 대체요법에 의해 체내 estrogen 수준이 높아졌을 때 high density lipoprotein-cholesterol(HDL-C)는 상승하는 반면, low density lipoprotein-cholesterol(LDL-C)는 감소하는 것이 보고된 바 있으나 그 결과들은 서로 일치하고 있지 않다[32].

당근 추출물 중의 phytoestrogen이 폐경기 이후에 나타나는 혈청지질대사 변화로 인한 관상동맥 질환의 발생 위험을 줄일 수 있는 호르몬 대체작용을 할 수 있다면 외인성 estrogen의 공급으로 인한 부작용을 감소시킬 수 있을 것으로 사료된다. 이에 본 연구에서는 흰쥐를 사용하여 난소 절제 시술을 하여 인위적으로 폐경을 초래한 뒤, 당근 추출물을 투여하여 혈중지질 농도와 간 조직 중의 항산화효소의 변화를 관찰하여 식물성 estrogen의 대체효과를 알아보자 하였다.

## 재료 및 방법

### 투여시료 제조방법

본 실험에 사용한 당근(*Daucus carota L.*)의 뿌리와 씨앗은 1998년에 수확한 것으로 씨앗은 동부한농종묘에서, 뿌리는 양산임기 당근밭에서 구입하였다. 시료로 사용한 당근은 흐르는 물에 깨끗이 씻고, 일정한 크기로 자른 후 그늘에서 건조시킨 후 분쇄하여 -30°C의 냉동고에 보관하였다. 건조된 시료 중 뿌리(220g)는 methanol 1.5 ℥를 넣고 추출하였으며, 당근 씨앗(975g)은 methanol 1.5 ℥를 가해 각각 3회씩 추출하여 evaporator로 농축한 후 동결건조하여 methanol 추출물로 사용하였다.

### 실험동물

실험동물은 체중이 평균 150g 되는 Sprague-Dawley계 암컷 흰쥐로 본 실험실에서 고형사료(삼양유지사료)로 사육하였고, 실험 시작 전 1주일 동안 대조 군 식이로 적응시킨 후 난소를 절제한 뒤 동물의 체중에 따라 각 군의 평균 체중이 비슷해지도록 10마리씩 4군(대조군(Control), carrot seed extract 투여(S)군, carrot root extract 투여(R)군, estrogen 투여(E)군)으로 나누어 8주간 실험하였다. 동물실험 실의 사육조건은 온도 24±2°C, 습도 55~60%를 항상 유지시키며 물과 사료는 자유 급식시켰다.

### 난소절제시술

1주일 동안 주위환경에 적응시켜 체중에 따라 난괴법(Randomized Complete Block Design)에 의해 군을 나누어 난소절제 수술을 실시하였다. 수술은 ether 마취 후 심마취기에 이르면 복부를 절개하여 난소를 제거하고 절개부는 봉합하였다. 3일 후부터 대조군은 0.9% saline, carrot seed extract 투여군은 kg당 100 mg의 carrot seed extract를, carrot root extract 투여군은 kg당 100 mg의 carrot root extract를 이틀에 한번 두 달간 복강 내로 투여하였고, estrogen 투여군에는 estrogen을 50 μg/day 같은 방법으로 투여하였다.

### 혈액 및 장기 적출

실험 종료 후 실험 동물을 ether 마취 하에서 개복한 후 심장에서 채혈하여 30분 후 3000 rpm에서 10분간 원심분

## 당근추출물이 난소를 절제한 흰쥐의 혈중지질 및 항산화효소 활성에 미치는 영향

리하여 혈청을 분리하였으며, 간장은 적출하여 0.9% 생리식염수용액으로 세척하여 vial에 담아 -70°C에 보관하였다.

### 분석 시료의 조제 및 분석 방법

#### 1. 간 조직 중의 과산화지질 정량 및 단백질 함량 분석

과산화지질의 정량은 간조직 1g당 5배량의 1/20 M phosphate buffer(pH 7.4) 용액을 가하여 냉동하에서 마쇄한 후 이 마쇄 균질액을 0.5 ml씩 triple로 취하였다. TBA(Thiobarbituric acid)법으로 7% SDS로 가용화시켜 여기에 0.67% acetic acid를 가하여 95°C 수욕상에서 50분간 가온 후 즉시 굽냉시켜 butanol 5 ml로 추출하고, 3000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 상등액을 취하여 Elisa를 이용하여 535 nm에서 흡광도를 측정하였다. 단백질의 정량은 Lowry 등의 방법[23]에 의해서 750 nm에서 흡광도를 측정하고 표준 단백 질 시료로서 bovine serum albumin을 이용하여 같은 방법으로 측정한 후 단백질량을 산출하였다.

#### 2. 간 조직 중의 superoxide dismutase(SOD), catalase 및 GSH-peroxidase(GPx)의 활성 측정

SOD 활성도는 Oyanangui법[24]에 준하여 Fig. 1에 나타낸 방법으로 시료를 조제한 후 UV visible spectorscopy를 이용하여 550 nm에서의 흡광도 변화를 2분 동안 측정하였다. 시료의 효소활성도를 알아보기 위한 표준액으로서는 Sigma사의 superoxide dismutase standard를 사용하였다. Catalase 활성도는 Chance법[5]에 준하여 phosphate buffer (0.05 M pH 7.0) 1.9 ml에 sample (간 homogenate를 3000 rpm에서 20분간 원심분리하고 그 상등액 100 μl를 buffer로 80배 희석) 0.1 ml와 과산화수소 용액 1 ml를 혼합하여 240 nm에서 1분 30초 동안 흡광도 감소 측정을 하였다. GPx 활성은 Fig. 2에 나타낸 방법에 의해 340 nm에서 1분 30초간 흡광도 감소 측정을 하였다.

#### 3. 혈청 중의 GOT, GPT 및 지질농도 분석

분리한 혈청의 GOT 및 GPT 활성은 Reitman-Frankel법 [27]으로 측정하였고, 총 cholesterol, TG, HDL-C농도는 Kits (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.)를 사용하여 효소비색법(enzymatic colorimetric method)으로 분석하였다. 혈청 LDL-C 농도는 Friedwald법[9]에 의하여 산출하였고, LDL-C/HDL-C 및 TC/HDL-C ratio는 실험을 통해 얻은 혈액 지질 측정치들을 이용하여 계산으로 구하였다.

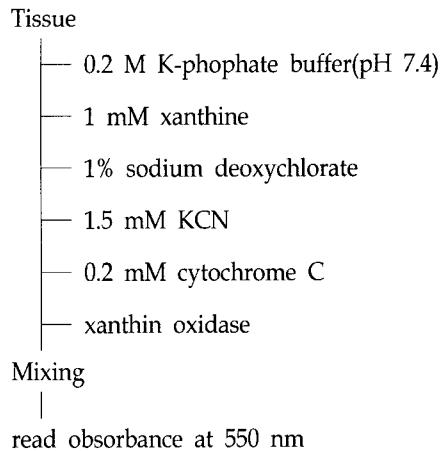


Fig. 1 Preparation of liver for analysis of SOD.

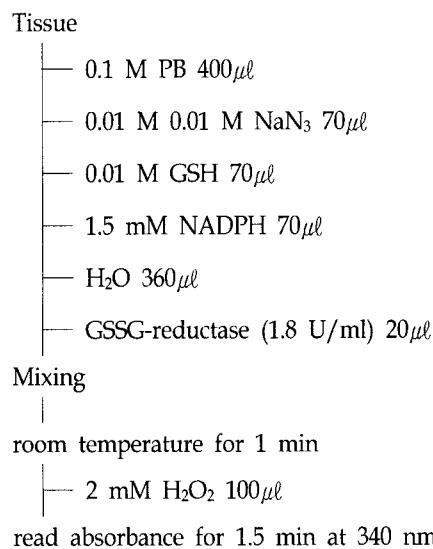


Fig. 2 Preparation of liver for analysis of CSH-peroxidase.

#### 4. 통계처리

본 연구에 대한 모든 실험 결과는 평균치와 표준편차로 나타내었고, 통계적 유의성은 student's t-test를 이용하여 상호 비교하였다.

## 결과 및 고찰

흰쥐를 사용하여 난소절제 시술을 하여 인위적으로 폐경을 초래한 뒤 당근 추출물을 투여하여 혈청 중의 효소 활성에 대하여 조사하였다. 실험기간 동안 식이 섭취량은 난소절제수술 여부 또는 추출물의 투여에 의한 영향은 받

지 않았으며, 체중 증가량에 있어서도 특이한 변화는 보이지 않았다.

지질과산화는 oxygen radicals에 의해 불포화지방산에서 일어나는 연쇄반응으로, oxygen radicals의 직접적인 작용보다는 철 이온 존재 하에 superoxide와 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 상호 작용에서 형성되는 hydroxy radical에 의해 간접적으로 일어나며 이의 주된 손상장소가 DNA나 세포막으로 알려져 있다 [8,6]. 이와 같은 지질과산화 반응은 여러 가지 독성 화합물이나 약물에 의한 간 손상 발생의 가장 중요한 기전으로 인정되어지고 있고, 이러한 기전은 세포내 산화적 스트레스의 증가, 즉 free radical 생성의 증가 및 항산화적 방어력의 감소에 의해 야기된다고 볼 수 있다[4]. Table 2는 체내 과산화지질의 생성정도를 측정한 결과로 간 중의 MDA 양은 난소 절제 후 무투여군인 대조군(Control)에 비해 각 물질의 투여군이 억제효과를 보였는데 특히 estrogen 투여군이 다른 군에 비해 더 큰 억제효과를 보였다. 난소를 절

제한 대조군의 경우 난소 절제 이전에 작용하던 호르몬이 절제됨으로써 그에 따른 생리기능이 상실되어 과산화지질량이 증가된 것으로 보인다. 반면, carrot seed extract 투여(S)군, carrot root extract 투여(R)군, estrogen 투여(E)군에서는 난소 절제시 일어날 수 있는 free radical의 생성을 어느 정도 감소시키므로 지질과산화도를 억제한 것으로 나타났다.

유리 산소는 SOD에 의해 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와 O<sub>2</sub>로, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>는 catalase 와 GPx에 의해 H<sub>2</sub>O로 전환되므로 SOD, catalase 및 GPx 는 유리 산소의 독성으로부터 세포를 보호하는 매우 중요한 효소이다[7,14,22]. 생체내의 항산화 방어기구 중에서 효소적 방어계의 하나로 superoxide radical을 환원시켜 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 전환시켜 산소 독으로부터 생체를 보호한다고 알려져 있는 SOD[15]는 대조군의 간 SOD 활성치에 비해 S군, R군 및 E군에서 각각 23%, 10% 및 19%의 감소율을 보였고, 그 중 seed 투여(S)군이 가장 큰 억제율을 보였다(Fig 3). 난소 절제 시술만 시행한 대조군에서 SOD 활성치가 높게 나타난 것은, 난소 절제 시술로 인해 free radical이 많이 생성되어 간에서의 항산화 효소 활성이 활발해 졌고, S군, R군 및 E군에서는 당근 추출물 또는 estrogen 투여에 의해 free radical 생성이 억제된 것으로 추정할 수 있다.

Catalase는 microsome에서 합성되어 골지체로 이동하여 부착되며 세포내의 peroxisome에 존재하여 내인적으로 생성된 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 H<sub>2</sub>O와 O<sub>2</sub>로 분해하는 역할을 한다[14]. Catalase 활성도는 Fig 3에서 보는 바와 같이 대조군의 간 catalase 활성도에 비해 S군, R군, E군이 각각 37%, 6% 및

Table 1. Classification of experimental group

Experimental group (No)	Injection sample	Injection dose
Control (10)	0.9% saline	2.5 ml/kg
S (10)	carrot seed	100 mg/kg
R (10)	carrot root	100 mg/kg
E (10)	estrogen	50 μg/day

Control: ovariectomized group

S: ovariectomized carrot seed extract treated group

R: ovariectomized carrot root extract treated group

E: ovariectomized estrogen treated group

Table 2. Effect of lipidperoxide values in rat liver homogenate

Group	MDA (mmol/100 g wet wt)
Control	20.05±1.73
S	17.40±1.16*
R	17.21±0.84*
E	16.23±1.76*

Values are the mean±S.D.

Significantly different from the value of control group (\*P<0.001).

Control: ovariectomized group

S: ovariectomized carrot seed extract treated group

R: ovariectomized carrot root extract treated group

E: ovariectomized estrogen treated group

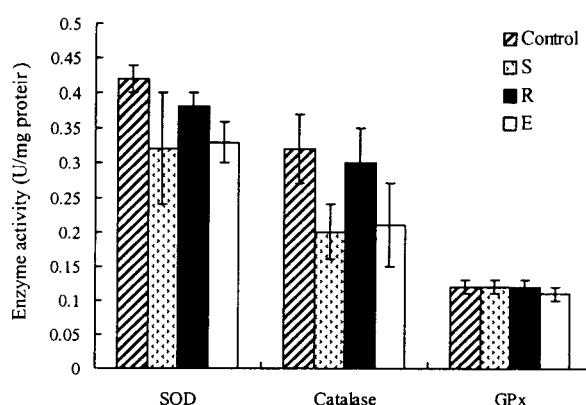


Fig. 3. Comparison of liver SOD, catalase and GPx in ovariectomized rats.

## 당근추출물이 난소를 절제한 흰쥐의 혈중지질 및 항산화효소 활성에 미치는 영향

28%의 감소율을 보였다. 특히, S군과 E군에서 탁월한 감소 효과를 보인 것은 생체내 free radical 생성을 억제함으로써 항산화 효과인 catalase 활성도를 낮춘 것으로 사료된다. GPx의 경우 S군, R군 및 E군 모두 대조군과 거의 비슷한 경향을 나타내었다.

GPT 및 GOT는 간세포에 다량 존재하는 효소로 간 손상시 세포외로 다량 유출되어 혈액에 증가됨으로서 간 손상의 지표로 이용되는 효소이다. Fig. 4에서 나타난 바와 같이 혈청 GPT 활성은 대조군과 비교해서 S군은 감소하는 경향을 나타내었으나 유의한 차이를 보이지 않았다. 한편, GOT 활성은 대조군에 비하여 S군, R군 및 E군에서 모두 감소하는 경향을 보였으나 유의성은 나타나지 않았다. Fig. 5에 혈청 중의 지질함량의 변동을 나타내었다. 중성지질 함량은 대조군에 비해 S군, R군 및 E군에서 낮은 경향을 보였으며, 이는 난소절제에 의해 증가한 혈청 중의 중성지질 함량이 estrogen 투여와 당근추출물 투여에 의해서 감소되어진 것으로 생각된다. 한편, TC의 경우, R군은 대조군과 비슷한 경향을 나타내었으나, S군과 E군에서는 대조군에 비해 감소하는 경향을 나타내었다. HDL-C 농도의 증가와 관련되는 요인으로 estrogen, 체중조절, 운동 등이 있는데, 폐경 후 여성은 estrogen 분비 증진으로 인하여 HDL-C 농도가 저하하는 것으로 알려져 있다[21]. 또한 폐경 이후 estrogen 대체요법에 의해 체내 estrogen 수준이 높아졌을 때 HDL-C는 상승하는 반면, LDL-C는 감소하는 것이 보고된 바 있으며 그 결과들은 서로 일치하고 있지 않다[32]. 한편, 내인

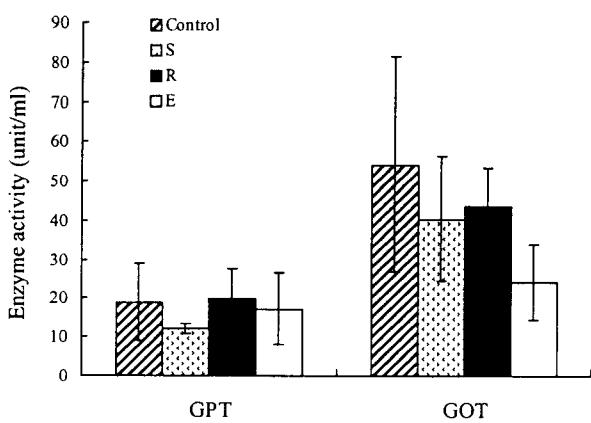


Fig. 4. Comparison of serum GOT and GPT levels in ovariectomized rats.

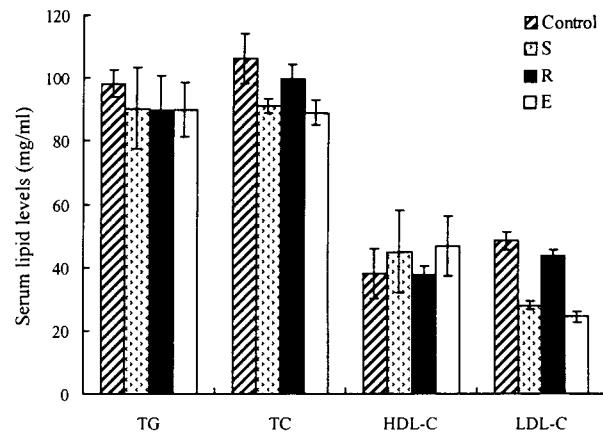


Fig. 5. Comparison of serum lipid levels in ovariectomized rats.

성 estrogen이 LDL-C에 미치는 영향으로서 동맥내막세포 내에서 LDL-C의 분해를 증진시키고 대식 세포 내에서의 LDL의 산화를 방지함으로써 혈관계 질환의 발생 위험을 낮춰준다는 견해가 일반적으로 알려져 있다[31]. 본 연구 결과에서도 유의하지는 않았지만 난소절제 후 estrogen을 투여한 군과 carrot seed extract를 투여한 군에서 대조군에 비해 HDL-C는 상승되고 LDL-C는 감소되는 경향으로 서로 양의 관계를 나타내었다. 혈청 중의 지질 함량에 있어서 난소 절제 시술만 시행한 대조군과는 달리 carrot seed extract 투여군에서는 estrogen 투여군과 거의 비슷한 경향을 나타내었으므로, carrot seed extract에는 phytoestrogen과 같은 호르몬 유사물질의 존재를 추정할 수 있고, 그 물질의 분리 동정과 좀더 구체적인 효과의 검토가 필요하다고 본다.

## 요 약

간 조직 중 MDA양은 난소절제 후 무투여군인 대조군에 비해 carrot seed extract 투여군, carrot root extract 투여군 및 estrogen 투여군에서 억제효과를 보였는데 이는 난소절제 시 일어날 수 있는 free radical의 생성을 어느 정도 감소시키므로써 지질과산화를 억제한 것으로 나타났다. SOD 및 catalase 활성도는 난소를 제거한 대조군에 비해 난소제거 후 호르몬을 투여한 군에서 낮게 나타났고, 당근 추출물을 투여한 군에서도 유사한 경향을 나타내었다. 혈중

GOT와 GPT 활성도는 대조군에 비해 호르몬 투여군과 당근 추출물 투여군에서 모두 낮게 나타났으며, 특히 carrot seed extract 투여군에서 유의적으로 감소하였다. 혈청 중의 지질 함량 변동에서 난소절제에 의해 증가한 혈청 중의 중성지질 함량이 estrogen 투여군에서 마찬가지로 당근 추출물의 투여에 의해 감소하였다. HDL-C level에 있어서도 carrot seed extract 투여군은 estrogen 투여군과 함께 대조군에 비해 증가하였으며, LDL-C의 경우 carrot seed extract 투여군과 estrogen 투여군은 대조군에 비해 낮은 경향이었다. 이러한 결과로부터 carrot seed extract는 간 조직 중의 항산화 효소와 혈청 중의 지질 함량 변화에 영향을 주었으며, 폐경 이후 estrogen 대체요법에 효과를 줄 것으로 기대된다.

### 참 고 문 헌

1. Annual Report on the Cause of Death Statistics. 1997. National Statistical Office, Seoul.
2. Belchetz, P. E. 1994. Hormonal treatment of postmenopausal women. *N. Eng. J. Med.* **330**, 1062-1071.
3. Bingham, S. A., C. Alkinson, J. Liggins, L. Bluck and A. Coward. 1998. Phytoestrogens: Where are we now? *British Journal of Nutrition.* **79**, 393-406.
4. A. J. Buege and D. S. Aust. 1978. Microsomal lipid peroxidation, p. 322, In Fleischer, S. and Packer, L. (eds.), *Method in Enzymology*, Vol. 52, Academic Press, New York.
5. Chance, B. and A. C. Maehly. 1955. Assay of catalase and peroxidase. pp.764-775, Vol. II, Academic Press, New York.
6. Fred, J., J. Yost and I. Fridovich. 1976. Superoxide and hydrogen peroxide in oxygen damage. *Arch. Biochem. Biophys.* **175**, 514-517.
7. Fridovich, I. 1986. Biological effects of the superoxide radical. *Arch. Biochem. Biophys.* **217**, 1-4.
8. Fridovich, I. 1989. Superoxide dismutase. *J. Biol. Chem.* **264**, 764-768.
9. Friedwald, W. T., R. J. Levy and D. S. Fredrickson. 1972. Estimation of concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma without use of ultracentrifuge. *Clin. Chem.* **18**, 499-503.
10. Fukutake, M., M. Takahash, K. Ishida, H. Kawamura, T. Sugimura and K. Wakabayashi. 1996. Quantification of genistein and genistin in soybeans and soybean products. *Food and Chemical Toxicology.* **34**, 457-461.
11. Gordon, T., W. K. Kannel and M. C. Hjortland. 1978. Menopause and coronary heart disease. *Ann. Int. Med.* **89**, 157-161.
12. Grady, D., S. M. Rubin and D. B. Petitti. 1992. Hormone therapy to prevent disease and prolong life in postmenopausal women. *Ann. Int. Med.* **117**, 1016-1037.
13. Guarneri, C., F. Fiamigni, C. Rossoni-Caldarera and R. Ferrar. 1982. Myocardial mitochondrial functions in a  $\alpha$ -tocopherol-deficient and refed rabbits. *Adv. Myocardiol.* **3**, 621-625.
14. Halliwell, B. and J. M. C. Gutteridge. 1990. Roles of free radicals andcatalytic metal ions in human disease, pp. 1-5, In Fleischer, S. and Packer, L. (eds.), *An overview methods enzymology*, 186, Academic Press. Inc., New York.
15. Henderson, B. E., R. Ross and L. Bernstein. 1988. Estrogen as a cause of human cancer. *Cancer Res.* **48**, 246-253.
16. Herman, A. and M. Witold. 1997. Phytoestrogens and Western diseases. *Annals of Medicine.* **29**, 95-120.
17. Irvine, C. H. G., N. G. Fitzpatrick and S. L. Alexander. 1998. Phytoestrogens in soy-based infant foods; concentration, daily intake, and possible biological effects. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **217**, 247-253.
18. 정동효. 1998. 식품의 생리활성. pp.75-77, 선진문화사, Seoul.
19. Jung, Y. T. 1994. Human Physiology. 3rd revised, pp383-414, Chungku Press.
20. 김희연. 1999. 천연식품 중의 내분비계 장애 물질에 대하여. 식품과학과 산업, **32**, 43-50.
21. Lee, B. K. and Y. K. Chang. 1999. Relationships between fatty acid intakes and serum lipids in postmenopausal women. *Kor. J. Nutr.* **32**, 437-447.
22. Lippman, R. D. 1989. Free radical-induced lipoperoxidation and aging. pp. 209-213, In Miguel, J., A. T. Quintanilha and H. Weber, H (eds.), *CRC handbook of free radical and antioxidants in biomedicine*, Vol. I, CRC Press. Florida.
23. Lowry, O. H., N. J. Roserrough, A. L. Farr and R. J. Randall. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265-275.
24. Oyanagui, Y. 1948. Reevaluation of assay methods and establishment of kit for superoxide dismutase activity. *Anal Biochem.* **42**, 290-295.

25. Preuss, H. G. 1993. Nutrition and diseases of women : Cardiovascular disorders. *J. Am. Coll. Nutr.* **12**, 417-425.
26. Reinli, K. and B. Gladys. 1996. Phytoestrogen content of foods - A compendium of literature values. *Nutrition and Cancer.* **26**, 123-148.
27. Reitman, S. and S. Frankel. 1963. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Am. J. Clin. Pathol.* **28**, 56-61.
28. Reports of the national cholesterol education program expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults. 1988. *Arch. Intern. Med.* **148**, 36-40.
29. Sheehan, D. M. 1998. Herbal medicines, phytoestrogens and toxicity, risk, benefit considerations, **217**, 379-385.
30. 신동천. 1999. 내분비계장애물질이란? *식품과학과 산업*, **32**, 2-18.
31. Tikkannen, M. J. 1990. Role of plasma lipoproteins in the pathogenesis of atherosclerotic disease, with special reference to sex hormone effects. *Am. J. Obstet Gynecol.* **163**, 296-304.
32. Tikkannen N. E. A. 1982. High density lipoprotein2 and hepatic lipase: reciprocal change produced by estrogen and norgestrel. *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* **54**, 113-1117.