

검정콩 추출물이 납과 카드뮴을 투여한 흰쥐의 혈청 효소 활성도에 미치는 영향

한성희[†] · 신미경 · 김용욱* · 임세진**

원광대학교 식품영양학과

*동국대학교 식물자원학과

**동덕여자대학교 약학과

Effects of Methanol Extracts of Black Soybean on Enzymes Activities of Serum in Rats Fed Pb and Cd Solution

Sung Hee Han[†], Mee Kung Shin, Yong Wook Kim* and Sejin-Lim**

Dept. of Food Nutrition, College of Human Environmental Science, Wonkwang University, Chonbuk 570-749, Korea

*Dept. of Plant Resources Science, Dongguk University, Seoul 100-715, Korea

**Dept. of Medicine, Dongduk Women University, Seoul 136-714, Korea

Abstract

The effects of black soybean extracts on enzymes activities of rat were evaluated in present study. Eighty-four male Sprague-Dawley rats weighing 100 ± 10 g were divided into twelve groups which consisted of black soybean extract, Pb and Cd solution, and black soybean extract plus Pb or Cd soln groups. The weight gain was increased in black soybean extracts and Pb soln solution group but decreased in Cd soln solution group. The results obtained from the experiment were as follows: Glutamate pyruvate transaminase (GPT) and glutamate oxaloacetate transaminase (GOT) activities were not significantly different among experimental groups. The lactate dehydrogenase (LDH) activities of black soybean extract administered groups were decreased than those of Pb and Cd solution group. Black soybean group increased cholinesterase (ChEase) activity as compared to administration of Pb and Cd soln group.

Key words: black soybean extract, Pb and Cd solution, glutamate oxaloacetate transaminase, glutamate pyruvate transaminase, cholinesterase, lactate dehydrogenase

서 론

물질 문명이 발달하고 경제수준이 향상되면서 생활은 윤택해졌지만 이에 따른 폐단으로 각종 폐수와 인구 집중화된 도시의 생활 하수 다량 방출 및 농경지의 많은 농약 사용은 결국 식품의 오염을 가져와 우리의 먹거리를 지키는 일은 국가사회적으로 관심을 갖고 해결 해야 할 문제로 대두되었다. 이처럼 국민 건강에 심각한 영향을 미치는 식품 오염의 원인 가운데 환경오염 주범인 납과 카드뮴은 낮은 농도로도 독성이 커서 미량 섭취시에 체중감소, 빈혈, 단백뇨, 위장장애, 고혈압, 심혈관장애, 골연화증, 중추신경계 이상 등의 중독증세를 가져와 인체에 장기간 축적되면 치명적인 것으로 알려졌다(1,2). 한편, 우리나라의 식생활을 보면 주식인 쌀이 매우 중요한 위치를 차지하고 있으나 단백질과 지질의 함량이 낮고 단백질의 아미노산 조성에도 문제가 있어 여기에 콩은 쌀이 부족한 단백질을 보완 공급하고 있어 영양적 보완이 완전히 이루-

어진다고 볼 수 있다. 이처럼 두류는 단백질이 풍부하고 구성 아미노산이 상호균형을 이루고 있으므로 적절히 섭취하면 단백질 결핍을 방지할 뿐만 아니라 특히 콩 단백질은 동맥경화증의 위험요소인 혈중 cholesterol의 농도를 낮추고(3) 체내 칼슘 평衡에 기여하여 골다공증의 발생을 감소시키는 것으로 알려졌다(4).

더구나 최근에는 콩 식품의 생체조절기능에 대한 연구가 활발하게 이루어지면서 항암작용이나 콜레스테롤 농도저하 효과(5,6)와 콩의 수성 알콩 추출물에는 단백질 이외에 isoflavones, phytic acid, saponins, trypsin inhibitor 등의 기능성 성분이 함유되어 있으며(7) 특히 isoflavones의 배당체인 genistein은 인체에서 분리한 유방암, 전립선암, 간암세포 등의 성장저해작용과 세포분화를 촉진 및 면역증진 효과가 매우 높은 것으로 보고되었다(8). 그 가운데 우리나라 고유의 검정콩은 옛부터 약의 소재로 활용되어 겨울에 기침이 심할 때 흑두를 삶아 그 즙에다 흑설탕을 가하여 차대신 수시로 마시면 기침이 멎는다고 하

*To whom all correspondence should be addressed

여 많이 음용되어 오늘날까지도 애용되고 있다(9).

그러나 주로 민간요법으로 사용되어 왔던 콩류 추출액에 대한 연구는 찾아보기 힘들며 특히 검정콩과 관련된 보고로는 주로 이화학적, 영양학적 성분이 주종을 이루고 있고(10-12) 임상실험과 관련된 보고는 미흡한 실정이다.

따라서 본 연구는 현대인들의 성인병 급증과 식품이 오염되어 가고 있는 현 실정에서 두류 음료로의 활용을 보다 더 적극적으로 하기 위한 기초단계로서 우리나라 검정콩이 납과 카드뮴에 어떤 영향을 미치는지를 흰쥐를 모델로 glutamate pyruvate transaminase(GPT), glutamate oxalo-acetate transaminase(GOT), lactate dehydrogenase(LDH), cholinesterase(ChE)의 효소활성도를 조사하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 검정콩(*phaseolus vulgaris*)은 농촌 진홍원에서 종자를 얻어 재배한 콩을 가지고 사용하였다. 검정콩 2.0 kg을 분쇄기로 잘게 부순후 추출용기에 넣고 hexane 3 L를 넣은 후 3회 환류추출하여 지질성분을 제거하였다. 남은 잔사에 80% methanol 수용액 3 L를 가하고 70°C에서 5시간씩 3회 환류 추출한 후 whatman, No 42 여과지로 여과하였다. 얻어진 MeOH 여액을 감압농축하고 진공건조한 후 동결건조하여 검정콩의 추출물 시료를 만들었다. 실험동물사료는 시판된 고형사료를 기초 사료로 만들었다.

실험동물 및 사육방법

실험에 이용한 흰쥐는 Sprague-Dawley 계(♂, 100±10 g)로 1주일 동안 환경(온도 23±2°C, 습도 50~60%)에 적응시킨 후 Table 1에서처럼 난괴법으로 각 군당 7마리씩 12개군으로 구분하여 대조군은 기초사료와 일반 음용수군으로, 실험군은 검정콩 추출물 투여량은 흰쥐 체중 kg당 각각 40, 400, 4000 mg의 수준으로 하였고 납과 카드뮴 단독 투여군에서 납(lead acetate ($C_2H_3O_2)_2 \cdot 3H_2O$)은 100, 200 ppm 농도로, 카드뮴(cadmium chloride($CdCl_2 \cdot 2H_2O$))은 50, 100 ppm의 저농도, 고농도 두 수준으로 나눈 다음 1일 1회 경구투여하여 4주 동안 사육하였으며 명암의 주기는 12시간 간격으로 조정하였다. 사료 섭취량과 각 추출물의 음용 섭취량은 매일 오후 2시에 측정하여 전날 공급량에서 남아 있는 양을 빼서 일일 섭취량으로 계산하였고, 체중 측정은 식이 섭취로 인한 일시적인 체중 변화를 막기 위해 측정하기 1시간 전에 식이를 제거한 후 일주일마다 같은 시각에 측정하였다.

혈액의 생화학적 분석

실험 종료 후 흰쥐를 12시간 절식시킨 후 ethyl ether

Table 1. Classification of experimental group

Group	Experiment diet
A	Basal diet + drink water
B	Basal diet + 40 mg/kg black soybean extract water
C	Basal diet + 400 mg/kg black soybean extract water
D	Basal diet + 4000 mg/kg black soybean extract water
E	Basal diet + Pb 100 ppm water
F	Basal diet + Pb 200 ppm water
G	Basal diet + Cd 50 ppm water
H	Basal diet + Cd 100 ppm water
I	Basal diet + Pb 100 ppm water + 400 mg/kg black soybean extract water
J	Basal diet + Pb 200 ppm water + 400 mg/kg black soybean extract water
K	Basal diet + Cd 50 ppm water + 400 mg/kg black soybean extract water
L	Basal diet + Cd 100 ppm water + 400 mg/kg black soybean extract water

로 가볍게 마취시킨 후 개복한 즉시 심장정맥에서 10 ml 주사기로 혈액을 채취하기 혈청은 15°C에서 20분간 방치한 후 3000 rpm에서 15분간 원심분리하여 다음과 같은 방법으로 가검 혈청의 생화학적 분석을 하였다.

GOT 및 GPT의 활성도 측정은 Reitman-Franke법(13-16)에 따라 혈청 transaminase 측정용 kit시약(亞山製藥, 한국)을 사용하였고, ChEase 활성도 측정은 cholinesterase 측정용 kit 시약(Mizuho Medy RM-141K, Japan)을 사용하여 측정한 후 cholinesterase 활성도는 아래 공식에 의하여 IU/L로 산출하였다.

$$\text{Cholinesterase activity (IU/L)} =$$

$$\frac{\text{혈청 흡광도}}{\text{표준액 흡광도}} \times \text{표준액의 표시값}(1,000\text{IU/L})$$

LDHase 활성 측정은 lactate dehydrogenase 측정용 kit 시약(일본, Mizuho, Medy, SR-11)을 이용하여 측정한 후 효소 활성도는 아래 공식에 의하여 Wro. Unit (Wro. U=0.4821 IU/L)로 산출하였다(17,18).

$$\text{LDH activity (IU/L)} =$$

$$\frac{\text{혈청의 흡광도}}{\text{표준시료의 흡광도}} \times \text{표준시료의 환산계수}$$

통계 처리

분석하여 얻어진 체중변화와 효소 활성도의 측정치는 SAS series package의 ANOVA, DMRT(Duncan's multiple range test)로 유의성을 검증하였다(19).

결과 및 고찰

검정콩 추출물이 중금속을 투여한 흰쥐의 식이 섭취량 및 체중 증가량

중금속을 투여한 실험 흰쥐에서 검정콩 추출물 투여로

인한 식이섭취량과 체중 증가량 및 식이효율의 영향은 Table 2에서 보는 바와 같다. 식이섭취량에서 검정콩 추출물군은 21.52~23.08 g으로 대조군인 24.62 g에 비하여 낮게 섭취하였다. 중금속 단독 투여군에서 납 투여군이 17.07~18.09 g이고 카드뮴 투여군은 14.19~15.76 g이며 콩추출물과 중금속 동시 투여군은 19.35~20.82 g으로 중금속 단독 투여군에 비하여 높았다. 실험 최종일 체중 증가량에서 검정콩 추출물 단독 투여군은 278.12~291.73 g으로 대조군에 비하여 낮은 증가량을 보였는데 이는 검정콩 추출물이 체중의 증가를 억제하는 효과가 있는 것으로 사료되며 콩식품이 비만예방에 효과가 있다는 보고와 유사하였다(20). 납 단독 투여군은 261.16~264.78 g이었고, 카드뮴 투여군은 252.98~258.62 g으로 다른 모든 실험군에 비하여 체중이 낮았으며 특히 검정콩과 납 및 카드뮴 동시 투여군은 290.92~295.78 g으로 납과 카드뮴 단독 투여군보다 높아 검정콩 추출물과 중금속 투여군간에 유의적인 차이가 인정되었다. Kang 등(21)은 솔잎 추출물이 흰쥐의 성장과 체성분에 미치는 영향조사에서 솔잎 추출물을 기준으로 한 식이군은 대조군에 비하여 식이 효율이 다른 군에 비하여 별다른 차이가 없었으나 체중 증가량은 유의하게 낮았다고 보고하였는데 본 연구결과에서도 검정콩 추출물이 대조군에 비하여 식이효율은 별다른 차이가 없는 반면 체중증가는 감소하여 Kang 등의 보고(21)와 유사한 경향을 보였다.

혈청 중의 GOT, GPT 효소활성도

혈청 중의 GOT, GPT의 활성은 알콜, 사염화탄소, 유기용매와 기타 독성물질에 의한 간 실질세포의 장해 발생 시 혈중으로의 방출이 항진되어 나타나는 간장해의 지표로 이때 GOT의 활성이 GPT에 비하여 높게 나타나는 것

Table 2. Food intakes, body weight, and feed efficiency ratio of rats

Group	Food intake (g/day)	Body weight (g/a rat)	Feed efficiency ratio
A	24.62±5.63 ^{1)a2)}	296.33±15.35 ^{1)a2)}	0.21±0.002 ^{1)b2)}
B	21.52±3.40 ^{ab}	284.67± 9.24 ^{ab}	0.24±0.007 ^a
C	23.08±3.91 ^a	291.73±13.73 ^{ab}	0.22±0.003 ^b
D	21.91±2.33 ^{ab}	278.12± 5.78 ^b	0.22±0.005 ^b
E	17.07±3.02 ^c	261.16±15.14 ^{bc}	0.19±0.004 ^{bc}
F	18.09±2.21 ^{bc}	264.78±17.27 ^{bc}	0.18±0.002 ^{bc}
G	15.76±5.57 ^{cd}	258.62±14.38 ^c	0.13±0.001 ^c
H	14.19±3.19 ^{cd}	252.98±10.41 ^c	0.23±0.006 ^{ab}
I	19.98±1.45 ^b	295.78±14.64 ^a	0.28±0.007 ^a
J	20.82±4.45 ^b	289.18±15.15 ^{ab}	0.22±0.004 ^b
K	19.35±1.32 ^b c	293.46±15.89 ^{ab}	0.28±0.008 ^a
L	19.63±2.01 ^b c	290.92± 7.68 ^{ab}	0.26±0.004 ^{ab}

¹⁾Mean±S.D.

²⁾Means with different letters (a,b,c,d···) within a column are significantly different from each other at $\alpha=0.01$ as determined by Duncan's multiple range test.

으로 알려졌다. 이처럼 GOT, GPT의 활성은 정상상태에서는 효소의 활성이 낮으나 조직이 병적 상태에 빠지거나 혹은 붕괴되어 질병이 발생하면 세포내에 존재하는 효소가 다량으로 혈중에 이동하여 효소 활성도의 농도가 높아지기 때문에 일반적으로 만성간염, 급성간염, 지방간, 알콜성 간염, 간암 등 주로 간세포의 변성이나 괴사를 반영 할수 있는 효소(22)이다. 검정콩 추출물이 GPT, GOT 활성에 어느 정도 영향을 주는지를 조사한 결과는 Table 3에서 보는 바와 같다. GPT 활성도에서 대조군은 78.07 IU/L, 콩추출물군은 65.93~81.28 IU/L로 농도가 진할수록 감소되는 경향을 보였고, 중금속 단독 처리군은 83.96~97.23 IU/L으로 콩 추출물과 중금속 동시 처리군은 57.98~63.32 IU/L으로 중금속 단독 처리군에 비하여 감소되었다. GOT 활성도에서 대조군은 120.80 IU/L 검정콩 추출물군은 111.93~126.68 IU/L로 대조군에 비하여 약간 증가하였고 농도가 진한 실험군은 크게 감소하였다. 중금속 단독 처리군은 130.17~139.62 IU/L이고 검정콩 추출물과 중금속 동시 처리군은 101.72~109.14 IU/L로 중금속 단독 처리군에 비하여 감소하였다. Sheo 등(23)은 초산납을 투여한 흰쥐에 양파즙을 이용한 납 해독 능력시험에서 양파를 투여하지 않고 납만 투여한 경우 중독성 간염에 GPT, GOT의 높은 증가치를 나타냈으나 납과 양파를 동시에 투여한 군은 납만 투여한 군보다 GPT, GOT는 활성이 낮다고 보고하였는데 본 연구결과에서 납과 카드뮴 단독 투여군에 비하여 검정콩 추출물에 중금속 동시 투여한 군의 GPT, GOT 활성도가 매우 낮았다. 이는 검정콩 추출물이 중독성 간염에 의한 중금속을 해독하여 간 조직의 납과 카드뮴의 축적을 어느정도 경감시킨 것으로

Table 3. Activities of GPT and GOT in serum of rats administrated black soybean extract and heavy metal (unit: King-amstrong)

Group	GPT ¹⁾	GOT ²⁾
A	78.07±11.02 ^{3)abc4)}	120.80±14.44 ^{1)ab2)}
B	81.28±17.27 ^b	125.60±14.89 ^{bc}
C	73.56±11.84 ^{abc}	126.68±12.93 ^{bc}
D	65.93±10.33 ^{cd}	111.93±19.32 ^{bc}
E	83.96±11.69 ^{ab}	133.07±14.13 ^a
F	88.02± 7.46 ^{ab}	139.62±11.16 ^a
G	91.60±17.30 ^a	130.17±19.98 ^{ab}
H	97.23±12.35 ^a	131.90±10.99 ^{ab}
I	57.98±10.51 ^{bc} d	101.80±12.09 ^c
J	59.24±15.59 ^{bc} d	101.72±13.84 ^c
K	58.16± 7.13 ^{bc}	105.96±19.23 ^{bc}
L	63.32±13.74 ^c	109.14±13.98 ^c

¹⁾GPT: Glutamate pyruvate transaminase.

²⁾GOT: Glutamate oxaloacetate transaminase.

³⁾Mean±S.D.

⁴⁾Means with different letters (a,b,c,d···) within a column are significantly different from each other at $\alpha=0.01$ as determined by Duncan's multiple range test.

사료되며 이는 Sheo 등(23)의 보고와 유사하였다.

혈청 중 lactate dehydrogenase(LDH)와 choline esterase(ChEase) 활성

검정콩 추출물이 납과 카드뮴을 투여한 혈청 중 LDH와 ChEase의 효소활성도는 Table 4에서 보는 바와 같다. LDH는 해당계 효소의 일종으로 간, 심장, 골격근에 분포되어 있어 효소 활성의 증가는 심장, 간, 신장 질환 및 암, 악성빈혈, 백혈 등에서 볼 수 있다(24).

LDH의 활성에서 대조군은 596.33 IU/L, 검정콩 추출물군은 542.83~590.80 IU/L로 대조군에 비하여 감소하였고, 납과 카드뮴의 단독 처리군은 616.17~695.33 IU/L이고 검정콩 추출물에 납과 카드뮴 동시 투여군이 364.40~422.80 IU/L로 납과 카드뮴 단독 투여군에 비하여 LDH 활성이 감소되어 검정콩 추출물이 중금속으로 인한 조직의 손상을 어느 정도 회복시킬 수 있을 것으로 생각된다. ChEase는 신경계 전달물질인 acetylcholine을 분해하는 효소로 체내 acetylcholine의 축적을 막아준다. 즉 대뇌피질에서 choline acetyl transferase 감소는 콜린성 신경조직(cholinergic system)의 손상을 가져오는 효소(25,26)이다. ChEase의 활성도에서 검정콩 추출물군이 77.67~81.40 IU/L로 대조군인 80.67 IU/L보다 벌어른 차이를 보이지는 않았다. 납과 카드뮴 단독 처리군은 60.33~66.50 IU/L로 낮으나 검정콩 추출물에 납과 카드뮴 동시 처리한 군은 72.40~84.20 IU/L으로 증가하여 검정콩 추출물 처리에 의한 anticholinergic effect를 볼 수 있었다. 그러나 검정콩의 ChEase 활성에 의한 신경 흥분작용에 대한 기전에 규명하기 위해서 구체적인 기전을 밝히도록 추후 많

Table 4. Activities of LDH and ChEase in serum of rats administrated black soybean extract and heavy metal

Group	LDH ¹⁾ (unit: Wro. U)	ChEase ²⁾ (unit: IU/L)
A	596.33 ± 11.89 ^{bcd4)}	80.67 ± 6.17 ^{1a2)}
B	542.83 ± 11.13 ^b	80.80 ± 7.92 ^a
C	590.80 ± 18.53 ^{bc}	81.40 ± 8.40 ^a
D	551.17 ± 17.92 ^b	77.67 ± 12.04 ^b
E	695.33 ± 11.43 ^a	60.33 ± 4.67 ^c
F	616.50 ± 17.01 ^{ab}	64.00 ± 9.24 ^c
G	626.33 ± 19.05 ^a	66.20 ± 12.24 ^c
H	616.17 ± 14.09 ^{ab}	66.50 ± 10.11 ^c
I	364.40 ± 11.87 ^d	72.40 ± 12.09 ^b
J	422.80 ± 18.14 ^{bc}	80.40 ± 11.72 ^a
K	376.60 ± 10.78 ^{cd}	80.80 ± 10.60 ^a
L	402.60 ± 13.02 ^{bcd}	84.20 ± 11.52 ^a

¹⁾LDH: Lactate dehydrogenase.

²⁾ChEase: Cholinesterase.

³⁾Mean ± S.D.

⁴⁾Means with different letters (a,b,c,d···) within a column are significantly different from each other at $\alpha = 0.01$ as determined by Duncan's multiple range test.

은 연구가 필요하다고 보았다.

요약

검정콩 추출물이 납과 카드뮴을 투여한 환쥐의 식이섭취량과 체중변화 및 혈청 효소활성도에 미치는 영향을 조사한 결과 식이섭취량은 검정콩 추출물군의 21.52~23.08 g이 납과 카드뮴 투여군에서 각각 17.07~18.08 g과 14.19~15.76 g으로 감소되었으며 검정콩 추출물에 중금속 동시 투여군은 19.35~20.82 g으로 중금속 단독 투여군보다는 증가되었다. 최종일 체중 증가량을 보면 검정콩 단독 추출물 투여군은 278.12~291.73 g으로 납과 카드뮴 단독 투여군은 252.98~264.78 g으로 검정콩 단독 추출물군에 비하여 감소되었고 검정콩과 납 및 카드뮴 동시 투여군의 체중 증가량은 290.92~295.78 g으로 중금속 단독 투여군보다는 증가되었다. GPT는 검정콩 추출물군은 65.93~81.28 IU/L으로 농도가 진할수록 감소되었고 중금속 단독 처리군은 83.96~97.23 IU/L로 비교적 높았으나 검정콩 추출물에 중금속 동시 처리군은 57.98~63.02 IU/L로 중금속 단독 처리군에 비하여 감소되었다. GOT는 검정콩 추출물군이 111.93~126.68이었으나 농도가 진할수록 감소하였고, 중금속 단독 처리군은 130.17~139.62이며 검정콩 추출물에 중금속 단독 처리군은 101.72~109.14 IU/L로 중금속 단독 처리군에 비하여 감소하였다. LDH는 검정콩 추출물군이 542.83~590.80 IU/L으로 대조군인 596.33 IU/L보다 감소하였다. 중금속 단독 처리군은 616.17~695.33 IU/L, 검정콩 추출물과 중금속 동시 투여군은 364.40~422.80 IU/L으로 중금속 단독 처리군에 비하여 감소하였다. ChEase는 검정콩 추출물군은 77.67~81.40 IU/L이며 중금속 단독 처리군은 60.33~66.50 IU/L으로 검정콩 추출물과 중금속을 동시에 처리한 군은 72.40~84.20 IU/L으로 검정콩 추출물 단독 투여군이 증가하였다. 이상의 결과로 미루어 볼 때 검정콩 추출물이 환쥐의 납과 카드뮴 중독으로 인해 증가된 혈청중의 효소 활성을 유의성 있게 저하시켜 검정콩 추출물이 납과 카드뮴 중독을 어느 정도 완화시킬 수 있어 간의 해독 및 각 조직 세포 손상에 대한 억제 효과가 어느 정도 있을 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥원 연구사업의 연구비 지원으로 수행된 결과의 일부로 이에 감사를 드립니다.

문헌

- Edward, J.C.: *Nutrition and environmental health, minerals and macro-nutrients*. John Wiley and Sons, New York, Vol. 2, p.65-70 (1981)
- Venugopad, B. and Luckey, T.D.: *Metal toxicity in*

- mammals*. Plenum Press, New York, Vol. 2, p.35-39 (1978)
3. Bakihit, R.M., Klein, B.P., Essex-Sorile, D., Ham, J.O., Erdman, J.W. Jr. and Pottrt, S.M. : Intake of 25 g of soybean protein with or without soybean fiber alters plasma lipids in men with elevated cholesterol concentrations. *J. Nutr.*, **124**, 213-222 (1994)
 4. Abelow, B.J., Holford, T.R. and Insogna, K.L. : Cross-cultural association between dietary animal protein and hip fracture a hypothesis. *Calcif. Tissue Int.*, **50**, 14-18 (1992)
 5. Kim, J.S., Nam, Y.J. and Kwon, T.W. : Induction of quinone reductase by soybean isoflavone, genistein. *Food and Biotechnology*, **5**, 70-76 (1996)
 6. Kenney, A. : Cancer prevention by soy products. *J. Nutr.*, **125**, 733-739 (1995)
 7. Adlercreutz, H., Goldim, B.R., Gorbach, S.L., Hockert, K.A.V., Watanabe, S., Hamalainen, E.K., Wahala, K.T., Hase, T.A. and Fotsis, T. : Soybean phytoestrogen intake and cancer risk. *J. Nutr.*, **125**, 757-770 (1995)
 8. Wu, R.T., Chiang, H.C., Fu, W.C., Cein, K.Y., Chang, Y.M. and Horng, L.Y. : Formosanin an immunomodulator with antitumor activity. *Int. J. Immunopharm.*, **12**, 777-782 (1990)
 9. Koh, K.J., Shin, D.B. and Lee, Y.C. : Physicochemical properties of aqueous extraction small red bean, mung bean and black soybean. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **29**, 854-859 (1997)
 10. Oh, M.K., Rhee, S.H. and Cheigh, M.S. : Change of lipid composition of Korean black soybean before and after soaking. *J. Korean Sci. Food Nutr.*, **21**, 29-35 (1992)
 11. Kon, S. : Effect of soaking temperature on cooking and nutritional quality of beans. *J. Food Sci.*, **44**, 1329-1335 (1979)
 12. Moon, J.S., Bae, Y.I. and Shim, K.H. : Purification of α -amylase inhibitor from black bean in Korea. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **27**, 762-767 (1995)
 13. Reitman, S. and Frankel, S.A. : A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transminase. *Amer. J. Clin Pathol.*, **28**, 56-60 (1957)
 14. Ginsberg, A.L. : Very high levels of SGOT and LDH in patients with extrahepatic biliary tract obstruction. *Amer. J. Dig. Dis.*, **15**, 803-809 (1970)
 15. Bardwill, C. and Chang, C. : Serum lactic dehydrogenase, leucine amino peptidase and 5-nucleotidase activities, observations in patients with carcinoma of the pancreas and metatobiliary disease. *J. Canad. Med. Ass.*, **89**, 755-760 (1963)
 16. Karmen, A., Wroblewski, F. and LaDue, J.S. : Transaminase activity in human blood appendix: note on spectrophotometric assay of glutamic-oxalacetic transaminase in human blood serum. *J. Clin. Invest.*, **34**, 126-131 (1955)
 17. Wroblewski, F. and LaDue, J.S. : Lactic dehydrogenase activity in blood. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, **90**, 210-215 (1955)
 18. Amador, E.L., Dorfman, E. and Wacker, W.E. : Serum lactic dehydrogenase activity an analytical assessment of current assays. *Clin. Chem.*, **9**, 391-396 (1963)
 19. SAS : *SAS series package*. SAS Institute Inc., Cary, NC (1987)
 20. Kim, J.S. : Current research trends on bioactive function of soybean. *Korea Soybean Digest.*, **13**, 17-24 (1996)
 21. Kang, Y.H., Park, Y.K., Ha, T.Y. and Moon, K.D. : Effects of pine needle extracts on serum and liver lipid contents in rats fed high fat diet. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **25**, 367-371 (1996)
 22. Cheroret, G., Dessor, D. and Lehr, P.R. : *In vitro* effects of aluminum chloride on choline acetyltransferase activity of the rat brain during postnatal growth. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **52**, 487-490 (1994)
 23. Sheo, H.J., Lim, H.J. and Jung, D.L. : Effects of onion juice on toxicity of lead in rat. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **22**, 138-142 (1996)
 24. Davies, P. and Maloney, A.F.J. : Selective loss of cholinergic neurones in alzheimer's disease. *Lancet*, **2**, 1403-1409 (1976)
 25. Perry, E.K., Tomlinson, B.E., Bergmann, K., Gibson, P. H. and Perry, R.H. : Correlation of cholinergic abnormalities with senile plaque. *Brit. Med. J.*, **2**, 1457-1460 (1978)
 26. White, P., Hilet, C.R., Goodhard, M.J., Carrasco, L.H., Keel, J.P., Williams, I.E.I. and Brown, D.M. : Neocortical cholinergic neurons in elderly people. *Lancet*, **2**, 558-562 (1977)

(1999년 6월 18일 접수)