

이란산 흑석류 농축액과 그 제품의 성분 및 함유된 Phyto 에스트로겐류에 관한 연구

최원균 · 정교순 · 조규성* · 황명오** · 유영숙***

(주)넥서스테크놀로지스 연구개발부, *한경대학교 식품공학과,

** (주)한일양행, ***한국과학기술원 생체대사연구센터

Proximate Compositions and Selected Phytoestrogens of Iranian Black Pomegranate Extract and Its Products

One-Kyun Choi, Kyosoon Chung, Gyu-Seong Cho*,

Myeong-O Hwang** and Young Sook Yoo***

*R&D, Nexus Technologies Co. Ltd., *Dept. of Food Technologies, Hankyong National Univ.,*

***Hamlyanghang Co. Ltd.,*

****Bioanalysis and Biotransformation Research Center, Korea Institute of Science and Technology*

Abstract

Phytoestrogens are non-steroidal compounds found in a variety of plants, which exert estrogenic effects in animals. In this study, the physico-chemical properties of Iranian black pomegranate extract and its products as preliminary research for the developing of natural estrogen supplement were evaluated. The chemical components of Iranian black pomegranate extracts and its product (Forever 120) were analyzed. Proximate compositions of pomegranate extracts were as follows; crude lipid 0.4%, crude protein 0.9%, crude ash 1.4% and carbohydrate 42.0%. Major amino acids of pomegranate extracts are glutamic acid (1310.0ppm), aspartic acid (896.2ppm), arginine (877.7ppm) and phenylalanine (57.5ppm). Fatty acid compositions of pomegranate extract lipid extracted by chloroform-methanol (2:1) were myristic (13.1%), stearic (69.4), oleic acid (6.8%) and palmitic acid (8.3%). Mineral elements were ferrous (6640.0ppm) and potassium (2550.8ppm). Vitamins were composed of ascorbic acid (20.0mg/100g), Vit. B₁ (0.12mg/100g) and niacin (0.80mg/100g). 20 phytoestrogens and 20 estrogens of pomegranate extracts were detected Daidzein (0.29ppm), quercetin (9.75ppm) genistein (0.29ppm) and 17 β -estradiol (0.15ppm). Above the chemical components of pomegranate extracts were compared with that of pomegranate its product or other isoflavon concentrates.

Key words : phytoestrogen, pomegranate, physico-chemical properties.

서 론

여성은 폐경 후 에스트로겐의 급격한 감소로 생식
비뇨기계가 위축되고 안면 홍조와 오한 등의 갱년기
증상이 나타나는 데 에스트로겐이 결핍된 만큼 보충

을 해주게 된다. 이러한 것을 호르몬 대체요법이라 하
며 주로 이용되는 합성 에스트로겐 요법은 폐경기 이
후 여성에서 나타날 수 있는 여러 가지 문제의 발생
위험을 효과적으로 감소시키는^{1,2)} 대신 유방암과 자궁
암 발병위험을 증가시킨다^{3,4)}는 심각한 문제점을 갖는

† Corresponding author : One-Kyun Choi

다. 따라서 천연 자원에서 이러한 생리 활성이 있으면서 내분비계 장애물질로서 작용하지 않는 안전한 천연 호르몬 대체 식물을 찾고자 하는 노력이 약품 및 식품 산업에서 계속되고 있는 연구과제이다. 국외에서 지금까지 가능성이 있는 천연호르몬 대체 성분들로는 genistin, daidzin, daidzein, genistein coumestrol 등이 알려져 있으며 이러한 성분들이 많이 함유된 식물들로는 식탁에서 흔히 볼 수 있는 대두를 비롯하여 붉은 토끼풀, moghate 뿌리, 올리브 씨, pinus pinia 그리고 석류씨 등이 있다^{5,6)}. 본 연구에 사용한 석류는 이란을 중심으로 한 아시아 서남부 및 인도의 북서부가 자생지로, 현재는 아열대 및 열대 각지에 널리 퍼져 있는 식물로써 예로부터 강장제로 알려져 왔으며 특히 고혈압과 동맥경화 예방에 좋은 효과를 나타낸다. 또 설사, 이질, 복통, 대하증 등에 효과가 있으며 구충제의 작용도 한다^{7,8)}. 국내에서 생산되는 석류는 생산량도 많지 않고 당도가 낮아 과일 그대로 또는 일부 차나 음료 등에 사용되고 있고 대부분 국내의 석류제품들은 일본이나 미국 그리고 이란에서 수입한 석류를 주로 사용하고 있다. 국외에서 석류에 대한 연구는 일본, 이스라엘 그리고 이집트 등지에서 석류의 성분 분석과 생리활성 및 특성 그리고 섭취효과에 대한 연구가 계속 진행되고있다⁹⁻²⁰⁾. 국내에서 석류에 대한 연구는 심 등²¹⁾이 석류의 암세포 증식억제에 대한 연구와 장내균총조절에 대한 효과²²⁾ 그리고 과피를 이용한 염색 효과에 대한 보고²³⁾ 외에 다른 연구는 거의 없는 실정이다. 본 연구는 이란산 석류의 천연 에스트로겐 대체 제제 및 건강보조 식품으로서의 활용을 위한 기초 연구로 이란산 흑석류 농축액과 이를 이용한 과립 제품의 이화학 성분과 식물에스트로겐의 성분에 대해 실험하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

이란산 흑석류 농축액과 제품(제품명: 포에버120) 그리고 대두와 칩에서 추출한 이소플라본 농축분말을 (주)한일양행(안성, Korea)에서 구입하여 실험에 사용하였다. 2001년 수확 후 농축하여 얻어진 흑석류 농축물과 농축물 40%를 첨가하여 제조한 제품을 그대로 또는 마쇄 후 시료를 균일화하여 냉동 보관하면서 실험에 사용하였다.

2. 일반성분 분석

시료의 수분함량은 105°C 상압 가열 건조법, 조지방

함량은 속시렛추출법(Auto Soxtec System HT 1043, Tecator, Sweden), 조단백질 함량은 킬달법(Kjeltec 1030 Auto Analyzer, Tecator, Sweden)으로 측정된 질소량에 질소계수 6.25를 곱하여 산출하였으며, 조섬유의 함량은 H₂SO₄-NaOH분해법으로 (Dosi-Fiver 6 units, J. P. Selecta, Spain), 조회분은 직접회화법으로 측정하였다²⁴⁾. 당질의 함량은 100%에서 단백질, 지방, 섬유질 및 회분의 양을 뺀 값으로 나타내었다.

3. 아미노산 분석

시료 1 g을 6 N HCl 20 mL과 함께 분해용 시험관에서 105°C에서 24시간 산가수분해 시켜 얻은 분해액을 0.2 μm의 filter에서 여과한 후 ninhydrin 방법을 이용한 아미노산 자동분석기에서 분석하였다. 분석기기는 6300 amino acid analyzer (Beckman Inc., Fullerton, CA, USA)를 사용하였고, 검출은 460 nm와 530 nm에서 하였다. 사용한 column은 sodium column (4.6 mm × 15 cm) 이었다.

4. 무기질 분석

무기질 전처리는 건식법²⁵⁾으로 하였으며 inductively coupled plasma-atomic emission spectrophotometer (Spectro Flame Modula E, Fitchburg, MA, USA)용을 사용하였다. 기기 작동 조건은 Table 1과 같다.

5. 비타민 분석

비타민 A와 E는 chloroform/methanol/water의 혼합용매로 추출²⁶⁾하여 HPLC로 분석하였다. Column은 μ

Table 1. Operating conditions of ICP for mineral analysis

Power	1.2 Kw for aqueous	
Nebulizer pressure	3.5 bar for meinhard type C	
Aerosol flow rate	0.3 L/min	
Sheath gas flow	0.3 L/min	
Cooling gas	12 L/min	
Wavelength (nm)	Fe	275.574
	Cu	324.754
	K	766.491
	Zn	213.856
	Mn	257.610
	P	178.290
	Na	588.995
	Ca	373.690

-Bondapak C₁₈ (4.6mm×15cm), 용매는 100% methanol로 용매의 이동속도는 분당 1 mL씩 흘려주었으며, 검출은 비타민 A는 325 nm에서 C는 295 nm에서 하였다. 비타민 C는 5% methaphosphoric acid-용액으로 신속히 추출하여²⁷⁾ HPLC법으로 μ -Bondapak C₁₈ (4.6 mm I.D. × 250 mm), 용매는 100% H₂O로 용매의 이동속도는 분당 1 mL씩 흘려주었으며 검출은 270 nm에서 하였다. 다른 수용성 비타민들은 메탄올과 물의 1:1 혼합용매로 추출 후 HPLC법으로 μ -Bondapak C₁₈ (4.6 mm × 250 mm)의 column에서, 100% H₂O에서 60% methanol의 용매로 20분간에 걸쳐 gradient를 걸어 주었으며, 분당 1 mL씩 흘려주었고 검출은 270 nm에서 하였다.

6. 지방산 분석

지방산 조성의 분석은 Bligh와 Byer법²⁸⁾에 준하여 지질을 추출하고, n-hexane층을 메틸에스터화²⁹⁾시킨 후 무수 Na₂SO₄로 탈수한 후 여과하여 GC로 분석하였다. 분석시 GC는 Hewlett Packard 6890A (Palo Alto, CA, USA)를 사용하였으며 column은 HP사 FFAP으로 injection port는 260°C, detection port는 270°C, oven은 초기온도 180°C로 부터 분당 2°C씩 220°C까지 높였다. 사용한 가스는 헬륨, 시료주입량은 0.5 μ L, split ratio는 50:1, 검출은 flame ionization 검출기로 하였다.

7. Phyto에스트로겐과 에스트로겐의 분석

본 실험에 사용된 phytoestrogen 표준품은 flavone, hexaestrol, DES, enterodiol, equol, chrysin, enterolactone, β -zearalanol, α -zearalanol, zearalanone, 17- β -estradiol, Biochanin-A, catechin, β -zearalenol, α -zearalenol, daidzein, genistein, kaempferol, apigenin, quercetin의 20종이고 에스트로겐류는 Estrone, 17- β -estradiol, 2-hydroxyestrone, 2-hydroxyestradiol, 6- α -dehydroestrone, 6- α -hydroxyestradiol, 4-methoxyestradiol, estriol, 16-epiestriol, 16,17-epistriol, 16- α -hydroxyestrone, 17-epiestriol, 6-ketoestriol, 2-methoxyestriol, 6-hydroxyestriol 그리고 16-ketoestradiol의 16종이었으며 내부 표준물질은 d4-17 β -estradiol로써 모두 Sigma사 미국 특급 시약을 사용하였다. 표준용액은 0.01g을 정확히 칭량한 다음 메탄올로 1,000ppm이 되게 만든 후 10배 희석한 것을 냉장 보관하여 사용하였다. 유도체화 시약은 MSTFA(N-methyl-N-trimethylsilyltrifluoroacetamide)와 trimethylchlorosilane(TMCS)을 구입하여 STRA와 TMCS를 100:1(v/v)의 비율로 섞은 혼합용액을 사용하였다. Serdolit AD-2 resin(100~200 micron)은 Serve사(독일)로부터 구입하였다.

시료의 전처리와 분석방법은 Chung 등의 방법³⁰⁾을 참고하였다. 즉, methanol 추출한 25mg의 시료에 internal standard d4-17 β -estradiol 10 μ g/mL을 넣고 55°C에서 3시간 hydrolysis 시킨 후 diethylether 5mL을 넣고 10분간 흔든 후 유기 용매층을 취하여 evaporation 시킨 후 MSTFA/TMCS의 100:1 혼합물 50 μ L을 가하고 60°C에서 30분간 반응시켜 TMS ester 유도체를 만든 후 이를 GC/MS에 2 μ L 주입하였다. 유도체화를 시켜 GC/MS에 주입하였다. 사용한 분석기기는 Hewlett-Packard 5890 PLUS Gas Chromatography에 direct interface로 연결된 5970 mass selective detector(MSD)를 사용하였다. 분리관은 Ultra-2(길이 25mm, 내경 0.20 mm, film thickness 0.33 μ m)를 사용하였으며 분리관의 온도는 180°C에서 260°C까지 20°C/min으로 올리고 6분간 머문 후 다시 2°C/min으로 275°C까지 올려 8분간 유지시킨 다음 15°C/min으로 300°C까지 상승시켜 10분간 유지시켰다. 주입기의 온도는 300°C, detector 온도는 300°C 이동상 기체 헬륨의 유속은 0.85mL/min 그리고 주입 방법은 split mode(ratio 1:12)로 설정하였다. 이온화에 사용한 전자에너지는 70eV였고 전처리된 시료들을 분석하기 위해 질량 스펙트럼상의 특성이온만을 선택하여 검출하는 selected ion monitoring(SIM)방법을 이용하였다.

결과 및 고찰

1. 일반성분

이란산 석류농축액과 이를 이용한 제품 포에버 120의 일반성분은 Table 2와 같이 석류농축액은 수분 39.3%, 조지방 0.4%, 조단백질 0.9%, 조회분 1.4%, 그리고 탄수화물은 42.0%로 나타났고 포에버 120은 수분 2.6%, 조지방 1.5%, 조단백질 3.8%, 조회분 7.6%, 그리고 탄수화물은 84.5%로 나타났다.

2. 아미노산 함량

Table 2. Proximate compositions of pomegranate extract and Forever 120 (% of total weight)

Compositions	Pomegranate extract	Forever 120
Moisture	39.3	2.6
Lipid	0.4	1.5
Protein	0.9	3.8
Ash	1.4	7.6
Carbohydrate	42.0	84.5

Table 3. Amino acid composition of pomegranate extract and Forever 120 (ppm)

Composition	Pomegranate extract	Forever 120
Aspartic acid	896.2	1523.7
Threonine	88.7	311.8
Serine	459.5	545.4
Glutamic acid	1310.2	1735.7
Proline	174.0	2384.9
Glycine	106.5	505.3
Alanine	270.3	1095.1
Cystein	7.6	152.3
Valine	97.5	518.8
Methionine	92.7	nd
Isoleucine	52.7	368.1
Leucine	64.8	442.2
Tyrosine	59.4	111.2
Phenylalanine	57.5	138.8
Histidine	158.3	295.4
Trypropan	74.5	440.6
Lysine	82.1	510.5
Arginine	187.7	1237.9

아미노산 함량은 Table 3과 같이 석류 농축액에서는 글루탐산이 1310.0ppm, 아스파르트산이 896.2ppm, 아르기닌이 877.7ppm, 페닐알라닌이 57.5ppm으로 가장 많이 함유되어 있었으며, 유허아미노산인 시스테인은 7.6ppm으로 가장 적었다. 포에버 120의 아미노산 조성은 프롤라민 2384.9ppm, 글루탐산이 1735.7ppm, 1523.7ppm, 아르기닌이 1237.9ppm의 순으로 많이 함유되어 있었다. 포에버 120은 석류 농축액 40%를 넣어 건조 제조한 제품이므로 대부분의 아미노산 함량이 1.5~3배까지 높게 나타났다. 이러한 결과로 보아 제품공정 중 아미노산의 손실 및 변형은 거의 없는 것으로 사료된다.

3. 무기질 함량

석류농축액과 포에버 120의 무기질과 약산 성분의 조성은 Table 4와 같이 10종 이상의 무기성분들과 5종의 약산성분들이 검출되었다. 석류 농축액에서는 철분이 가장 많은 6640.0ppm이었고 그 다음이 염소 3464.0 ppm, 칼륨 2550.8ppm, 인 150.0ppm 칼슘 80.0 ppm 순으로 함유되어 있었다. 이외에도 망간 아연 등이 미량 들어 있었다. 반면 약산 성분들은 인산과 글리코르산이 각각 33980.0ppm과 40680.0ppm로 약산 성분들이 높게 나타났다. 또한 포에버120의 경우, 일반 무기

Table 4. Mineral and weak acids composition of pomegranate extract and Forever 120 (ppm)

Composition	Pomegranate extract	Forever 120
K	2550.8	2908.0
Ca	80.0	143.9
Na	10.1	14.7
P	150.0	167.8
Fe	6640.0	7311.0
Cl	3464.0	898.0
Mn	0.59	5.3
Cr	0.02	0.06
Zn	1.85	2.09
Cu	0.9	0.9
Pb	1.0	0.9
Cd	nd	nd
NO ₂	14972.0	2285
HPO ₄	33980.0	8243
SO ₄	4060.0	955
Glycolic acid	40680.0	406.7
Formic acid	nd	1.6
Acetic acid	6800.0	33.3

성분들은 대부분 석류 농축액보다 높게 나타났으나 약산 성분들은 인산과 글리코르산이 각각 8243.0 ppm과 406.70ppm으로 현저히 낮은 결과를 보여 주었다. 이러한 이유는 약산성분들이 실온 또는 약한 온도에서도 잘 휘발되기 때문에 제품가공공정시 높은 온도의 공기에 노출되는 과정에서 휘발된 것으로 사료된다.

4. 비타민 함량

석류 농축액과 포에버 120의 수용성, 지용성 비타민 함량은 Table 5과 같으며 100g당 mg으로 나타내었다.

Table 5. Vitamin composition of pomegranate extract and Forever 120 (mg/100g)

Composition	Pomegranate extract	Forever 120
Water soluble vitamin		
Thiamin (Vit. B ₁)	0.12	0.37
Riboflavin (Vit. B ₂)	0.02	0.06
Ascorbic acid (Vit. C)	20.00	25.41
Niacin	0.80	0.99
Vitamin B ₆	0.02	0.06
Fat soluble vitamin		
Tocopherol (Vit. E)	nd	nd

비타민 E는 알파, 베타, 감마 및 델타를 합산하였다. 두 시료에서 모두 지용성 비타민은 검출되지 않았고, 5가지의 수용성 비타민이 함유되어 있었으며 그 중 비타민 C를 제외한 나머지 비타민들은 아주 적은 양이 있었다. 즉 석류 농축액에서는 비타민 C가 20.0mg/100g으로 가장 많았으며 B₁과 B₂는 각각 0.12mg/100g, 0.02mg/100g였으며, 그리고 나이아신과 비타민 B₆는 각각 0.80mg/100g, 0.02mg/100g였다. 이에 비해서 포에버 120은 비타민 C가 25.41mg/100g이 있었고 나머지는 석류농축액의 결과와 비슷하거나 약간 높았고 모두 1mg/100g 이하로 나타났다.

5. 지방산 함량

석류 농축액과 포에버 120의 지방산의 구성은 Table 6과 같다. 즉, 6가지 종류의 지방산이 함유되어 있었으며, 석류 농축액의 주지방산은 palmitic acid와 stearic acid로 전체 지방산의 약 60~80%를 차지하고 있었다. 또한 모든 식품에 널리 분포되어 있는 oleic acid와 linoleic acid 그리고 myristic acid가 소량 존재하고 있었다.

Table 6. Fatty acids composition of pomegranate extract and Forever 120 (Peak area %)

Composition	Pomegranate extract	Forever 120
Myristic	13.1	2.5
Palmitic (16:0)	8.3	30.1
Stearic (18:0)	69.40	51.6
Oleic (18:1)	6.8	3.9
Linoleic (18:2)	nd	3.3
Linolenic (18:3)	nd	nd
Others	2.4	8.6

6. Phyto 에스트로겐과 에스트로겐의 분석

식물체에서 발견되는 에스트로겐성 물질을 phyto 에스트로겐이라 하며 항암작용과 심장병에 효과가 있는 곡물, 과일, 채소들은 대부분 phyto 에스트로겐을 포함하고 있다. 특히 콩과류에 많이 들어 있는 천연물로 에스트로겐과 유사한 작용을 하며 대부분 flavonoid와 phenolic acid 계통의 물질들로 이루어져 있다. 본 실험은 석류 농축액에서 이러한 성분들이 존재하는지를 확인하기 위하여 20종의 phyto 에스트로겐들과 16종의 에스트로겐들을 분석하였다. 다른 isoflavon 농축분말제품들의 결과와 비교하기 위해 칩과 대두에서 농축한 isoflavon 분말의 실험도 함께 하였다. Table 7에 나타난 바와 같이 칩분말에서는 daidzein은 51.75ppm으로 가장 많았고 equal은 0.63ppm, biochanine-A은 0.65 ppm, genistein 0.15ppm이 들어 있었다. 대두 isoflavon 농축분말에서는 daizein이 745.46ppm으로 칩에 비해 15배 정도 많이 들어 있었으며 apigenin은 35.33 ppm, genistein은 3.48ppm, biochanine-A도 0.66ppm이 들어 있었다. 석류 농축액에서는 6종의 phyto 에스트로겐 및 에스트로겐류가 들어 있었으며 각각 daidzein 23.72 ppm, quercetin 9.75ppm, catechin 1.48ppm, genistein 0.29 ppm, 2,3-di-MeO-estradiol이 0.04ppm, 그리고 17β-에스트라디올이 0.15ppm이 함유되어 있었다. 특히 17β-에스트라디올은 콩과 칩 isoflavon 농축액에서는 검출되지 않았고 석류 농축액에서만 0.15ppm이 검출되었다. 이러한 결과에서 나타난 성분들은 천연 에스트로겐과 비슷한 화학 구조를 가지면서 종양에 에스트로겐 수용체와 결합함으로써 더 강력한 천연 에스트로겐과 결합하는 것을 막아 항에스트로겐 역할을 하여 결과적으로 isoflavone은 조직의 전체적인 에스트로겐 효과를 줄이고 항에스트로겐의 역할을 하게 되는 것이다^{5,6)}.

Table 7. Phytoestrogens and estrogens screening of pomegranate extract and other source (ppm)

Compositions	Pomegranate extract	Soybean isoflavon concentrate	Arrowroot isoflavon concentrate
Equol	nd	nd	0.63
Biochanine-A	nd	0.66	0.65
Catechin	1.48	nd	nd
Daidzein	23.72	745.46	51.15
Genistein	0.29	3.48	0.31
Apigenin	nd	35.33	nd
Quercetin	9.75	nd	nd
17β-estradiol	0.15	nd	nd
2,3-di-MeO-estradiol	0.04	nd	nd

이러한 항에스트로겐의 역할은 항암작용의 중요한 역할을 한다. 이러한 천연 식물자원을 섭취할 한 동물은 isoflavone을 함유하지 않은 먹이를 섭취한 동물과 비교하여 유방에 종양이 생기는 경우가 실질적으로 적은데 isoflavone 섭취가 항에스트로겐 효과를 갖는 것은 유방의 세포복제를 지연시키므로 유방조직의 주기를 변화시키는 것과 관련 있을 것으로 사료된다.

이상의 결과에서 석류 농축물과 그 제품에 들어 있는 성분들을 확인하였으며, 특히 에스트로겐의 효과를 갖는 성분들이 콩이나 칩 등에서 추출된 isoflavon 농축액과 비교하여 확인되었다. 본 연구진은 이러한 결과를 바탕으로 석류에서 고농도 phyto 에스트로겐 고농축물 제조공정의 확립과 *in vivo*하에서 활성을 보기 위해 흰쥐에 급여하여 효과를 확인하는 연구를 계속할 것이다.

요 약

천연 호르몬 보충 제제의 개발을 위한 기초 연구로 이란산 흑석류 과즙 농축액과 이를 이용한 제품의 화학성분들을 분석하였다. 석류 농축액의 일반성분은 수분 39.3%, 조지방 0.4%, 조단백질 0.9%, 조회분 1.4%, 그리고 탄수화물은 42.0%이었다. 아미노산 함량은 글루탐산이 1310.0ppm, 아스파르트산이 896.2ppm, 아르기닌이 877.7ppm, 페닐알라닌이 57.5ppm순으로 무기 성분들은 철분 6640.0ppm, 염소 3464.0ppm, 칼륨 2550.8ppm, 인 150.0ppm, 칼슘 80.0ppm 순으로 많이 함유되어 있었다. 비타민은 5가지의 수용성 비타민이 함유되어 있었으며 그 중 비타민 C(20mg/100g)를 제외한 나머지 비타민들이 아주 적은 양이 있었다. 주요 지방산은 palmitic acid(8.3%)와 stearic acid(69.4%)로 전체 지방산의 약 60~80%를 차지하고 있었다. 또한 6종의 phyto 및 에스트로겐류가 들어 있었으며 각각 daidzein 23.72ppm, quercetin 9.75ppm, catechin 1.48ppm, genistein 0.29ppm, 2,3-di-MeO-estradiol이 0.04ppm, 그리고 17 β -에스트라디올이 0.15ppm이 함유되어 있었다. 이상의 결과들을 석류 농축액으로 제조한 제품 포에버 120과 칩과 대두 isoflavon 농축분말과 비교하였다.

감사의 글

본 연구는 2001년 한국과학기술원과 (주)한일양행의 산·연 융역연구사업으로 수행된 결과이며, 지원해주신 (주)한일양행에 감사를 드립니다.

참고문헌

1. Morishige, K., Matsumoto, K., Ohmichi, M., Nishio, Y., Adachi, K., Hayakawa, J., Nukui, K., Tasaka, K., Kurachi, H. and Murata, Y. : Clinical features affecting the results of estrogen replacement therapy on bone density in Japanese postmenopausal women. *Gynecol. Obstet. Invest.*, **52** (4), 223~6 (2001).
2. Cauley, J. A., Zmuda, J. M., Ensrud, K. E., Bauer, D. C. and Ettinger, B. : Timing of estrogen replacement therapy for optimal osteoporosis prevention, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **86**(12), 5700~5 (2001).
3. Clavel-Chapelon, F. and Hill, C. : Hormone replacement therapy in menopause and risk of breast cancer, *Presse Med.*, **21**; 29(31), 1688~1693 (2000).
4. Pike, M. C. and Ross, R. K. : Effect of hormone replacement therapy on breast cancer risk: estrogen versus estrogen plus progestin, *J. Natl. Cancer Inst.*, **6**; 92(23), 1951~1952 (2000).
5. Herrmann, K. : Review on chemical composition and constituents of some important exotic fruits, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, **173**(1), 47~60 (1981).
6. Moneam, N. M., Sharaky, A. S. and Badreldin, M. M. : Oestrogen content of pomegranate seeds, *J. Chromatogr.*, **22**; 438(2), 438~42 (1988).
7. 남산당 : 원색천연약물대사전 (1989).
8. 안택균 : 한국본초도감, 교학사 (1999).
9. Kaplan, M., Hayek, T., Raz, A., Coleman, R., Dornfeld, L., Vaya, J. and Aviram, M. : Pomegranate Juice Supplementation to Atherosclerotic Mice Reduces Macrophage Lipid Peroxidation, Cellular Cholesterol Accumulation and Development of Atherosclerosis, *J. Nutr.*, **131**(8), 2082~2089 (2001).
10. Amakura, Y., Okada, M., Tsuji, S. and Tonogai, Y. : High-performance liquid chromatographic determination with photodiode array detection of ellagic acid in fresh and processed fruits, *J. Chromatogr., A*, **27**; 896(1-2): 87~93 (2000).
11. De Pascual-Teresa, S., Santos-Buelga, C. and Rivas-Gonzalo, J. C. : Quantitative analysis of flavan-3-ols in Spanish foodstuffs and beverages, *J. Agric. Food Chem.*, **48**(11), 5331~7 (2000).
12. Gil, M. I., Tomas-Barberan, F. A., Hess-Pierce, B., Holcroft, D. M. and Kader, A. A. : Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing, *J. Agric. Food Chem.*, **48**(10), 4581~9 (2000).
13. Aviram, M., Dornfeld, L., Rosenblat, M., Volkova, N., Kaplan, M., Coleman, R., Hayek, T., Presser, D. and

- Fuhrman, B. : Pomegranate juice consumption reduces oxidative stress, atherogenic modifications to LDL, and platelet aggregation: studies in humans and in atherosclerotic apolipoprotein E-deficient mice., *Am. J. Clin. Nutr.*, **71**(5), 1062~76 (2000).
14. Krishna, A. and Banerjee, A. B. : Antimicrobial screening of some Indian spices, *Phytother. Res.*, **13**(7), 616~8 (1999).
 15. Schubert, S. Y., Lansky, E. P. and Neeman, I. : Antioxidant and eicosanoid enzyme inhibition properties of pomegranate seed oil and fermented juice flavonoids, *J. Ethnopharmacol.*, **66**(1), 11~7 (1999).
 16. Morsy, T. A., Mazyad, S. A. and el-Sharkawy, I. M. : The larvicidal activity of solvent extracts of three medicinal plants against third instar larvae of *Chrysomyia albiceps*, *J. Egypt Soc. Parasitol.*, **28**(3), 699~709 (1998).
 17. Ben, N. C., Ayed, N. and Metche, M. : Quantitative determination of the polyphenolic content of pomegranate peel, *Z. Lebensm Unters Forsch.*, **203**(4), 374~8 (1996).
 18. Gaig, P., Botey, J., Gutierrez, V., Pena, M., Eseverri, J. L. and Marin, A. : Allergy to pomegranate (*Punica granatum*), *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.*, **2**(4), 216~8 (1992).
 19. Igea, J. M., Cuesta, J., Cuevas, M., Elias, L. M., Marcos, C., Lazaro, M. and Compaired, J. A. : Adverse reaction to pomegranate ingestion, *Allergy*, **46**(6), 472~4 (1991).
 20. Segura, J. J., Morales-Ramos, L. H., Verde-Star, J. and Guerra, D. : Growth inhibition of *Entamoeba histolytica* and *E. invadens* produced by pomegranate root (*Punica granatum* L.), *Arch. Invest. Med.(Mex)*, **21**(3), 235~9 (1990).
 21. Shim, S. M., Choi, S. W. and Bae, S. J. : Effects of *Punica granatum* L. fractions on quinone reductase induction and growth inhibition on several cancer cells, *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, **30**(1), 80~85 (2001).
 22. 한복진 : 장내 균총조절에 유효한 소재의 탐색 및 목통, 석류, 치커리의 평가, 한양대학교 박사학위논문 (1995).
 23. 조은경 : 석류과피를 이용한 직물의 염색, 전남대학교 석사학위논문 (2000).
 24. Sullivan, D. M. : A.O.A.C. international Methods of Analysis for Nutrition Labeling, A.O.A.C. international Virginia, p. 20 (1995).
 25. Sullivan, D. M. : A.O.A.C. international Methods of Analysis for Nutrition Labeling, A.O.A.C. international Virginia, p. 161 (1993).
 26. Sullivan, D. M. : A.O.A.C. international Methods of Analysis for Nutrition Labeling, A.O.A.C. international Virginia, p. 549 (1993).
 27. Sullivan, D. M. : A.O.A.C. international Methods of Analysis for Nutrition Labeling, A.O.A.C. international Virginia, p. 561 (1993).
 28. Bligh, E. G. and Dyer, W. J. : A rapid method of total lipid extraction and purification, *J. Bio. Physiol.*, **37**: 911 (1959).
 29. Christie, W. W. : The preparation of methyl and other esters of fatty acids. In *Lipid Analysis*, 2nd ed., Pergamon press, New York, p.52 (1982).
 30. Choi, M. H., Yoo, Y. S. and Chung, B. C. : Biochemical roles of testosterone and epitestosterone to 5 alpha-reductase as indicators of male-pattern baldness, *J. Invest. Dermatol.*, **116**(1), 57~61 (2001).

(2002년 3월 4일 접수)