

실험쥐를 통한 콩과 콩나물 Isoflavones의 생체이용성 비교

김은미^{*§} · 김경진^{**} · 최진호^{**} · 지규만^{**}

한국식품연구원, * 고려대학교 생명공학원^{**}

Bioavailability Assessment of Isoflavones between Soybean and Soybean Sprout in Rat

Kim, Eun Mi^{*§} · Kim, Kyung-Jin^{**} · Choi, Jin-Ho^{**} · Chee, Kew Mahn^{**}

Korea Food Research Institute, * Songnam 463-420, Korea

School of Life Sciences and Biotechnology, ** Korea University, Seoul 136-701, Korea

ABSTRACT

Rodent models have been used to study the anticarcinogenic properties of the soy isoflavones, particularly genistein, but there is little information regarding the pharmacokinetics of the absorption and excretion of genistein. In this study, rats were given a single oral dose of genistein (20 mg/kg body wt) or an equivalent dose as Myoungjoonamul-kong and Myoungjoonamul soy sprouts. Concentrations of genistein were measured in plasma, urine and feces at intervals up to 48 hr after dosing. Maximum peak of plasma genistein concentration is 8 hr after dosing, and its concentration is 13.2, 7.4 mol/L in soy and soy sprout-treated rats, respectively. In pure genistein treated rats, maximum peak of plasma genistein concentration is 2 hr after dosing (5.7 mol/L). The percentage of dose recovered in urine over 48 hr was not different between groups (21.2% soy treated ; 18.2% soy sprout treated ; 16.1% pure genistein treated). There were no significant differences between groups in the recovery of genistein in feces (19.5%, 7.5% and 15.7% of doses, respectively). 6.9% and 6.07% of the daidzein from the soy and soy sprout treated was recovered in the feces. (*Korean J Nutrition* 38(5) : 335~343, 2005)

KEY WORDS : isoflavone, soybean, soybean sprouts; bioavailability.

서 론

급격한 산업화에 따라 생활문화는 현대화, 편리화를 추구하고, 식생활 문화는 천연의 것보다 가공품, 인스턴트식, 외식 등을 선호하는 경향과 동시에 식습관과 관련된 성인병의 문제도 심각하게 대두되고 있다. 이는 잘못된 식습관이 성인병과 같은 인체이상과 질병을 초래할 수 있다는 역학적 조사결과에 따라 일상식에서의 식품의 중요성이 강조되면서 식품에 관한 연구 분야도 식품성분 특히 식물이 갖고 있는 각종 생리 활성 효능에 관심이 모아지는 경향을 보이고 있다.¹⁻³⁾

이러한 생리 활성을 가지는 성분 중 isoflavones는 식물

이 외부 자극을 받을 때 생성되는 phytoalexin이라는 물질로 작물의 내병성 증진에 기여하는 물질이지만 인체 내에서는 estrogen과 그 역할이 비슷하여 phytoestrogens라고 불리우며 여러 가지 생리학 역할을 수행하는 것으로 알려져 있다. 역학조사를 통해 phytoestrogens가 풍부한 식이를 하는 아시아 지역에 서구형 질병이라고 하는 유방암, 전립선암, 심혈관계 질환과 골다공증의 위험이 낮으나, 아시아에서도 식생활 형태가 서구화됨에 따라 그 발병 빈도가 높아지고 있는 것으로 보고되고 있다. 특히 골다공증 환자의 80%가 폐경기 여성이며 폐경 후의 estrogen 결핍이 심혈관 질환과 골다공증을 가속화시키므로 노령 인구의 증가에 따라 폐경 여성의 건강문제가 증가하여 의학 및 사회경제적으로 많은 문제를 야기 시키고 있다.⁴⁻⁷⁾

식물성 estrogen (phytoestrogens)으로는 isoflavones, coumestans와 lignans 등이 대표적 물질로, 이 중 isoflavones은 콩과 두부, 두유 등의 콩제품에 많이 함유되어 있

접수일 : 2005년 3월 29일

채택일 : 2005년 6월 15일

§ To whom correspondence should be addressed.

E-mail : kem@kfri.re.kr

으며 이것은 성호르몬의 생산, 대사, 세포 내 효소, 단백질 합성, 성장인자 (growth factor)의 작용에 관여하고 항암 인자와 면역 조절제로서의 기능도 갖고 있다고 보고되고 있다.²⁾ 콩에 들어있는 주요 isoflavones는 배당체 형태로 malonyl-glycosides와 acetylglycosides결합체로 존재하나 열에 의해 쉽게 분해되므로 일반적으로 daidzin, genistin, daidzein, genistein을 soy isoflavones라고 한다.^{8,9)} 대부분의 soy isoflavones은 glycoside 형태로 존재하며 enzyme (β -glucosidase) 처리나 산처리에 의해 bioactive aglycone 유도체로 변화되며,¹⁰⁾ 발효 중 미생물이 생성하는 효소에 의해서도 당이 분해되어 aglycone형태로 된다. 또한 이 glycoside형태의 isoflavone은 섭취된 후 당이 제거되어 aglycone형태로 체내에 흡수되거나 장내 미생물에 의해 파괴되며 흡수된 isoflavones는 간에서 glucuronide나 sulfate 형태로 전환되어 소변으로 배설된다고 알려져 있다.¹¹⁾ 인체 내 대사과정에서 볼 때 aglycone인 genistein을 섭취한 경우와 배당체인 genistin을 섭취한 경우 이들 물질 간에는 약간의 차이가 있다. 즉 실험동물을 이용한 실험과 인체 실험에서 인체건강에 대한 isoflavone의 잠재적인 역할은 이들 물질의 생체이용성과 pharmacokinetics를 통해 설명할 수 있다.

본 연구는 옛 부터 상용해온 콩과 콩나물의 경우, 이들 식품으로부터 유래되는 isoflavone의 섭취량과 이용률이 높을 것으로 추정되나 이에 대한 연구가 아직 진행된 바가 없어, 실험쥐에게 genistein 함량을 기준으로 같은 함량의 콩과 콩나물과 순수한 genistein을 급여 시켜 시간별로 혈액과 뇨, 분에서의 isoflavone의 함량을 측정하여 섭취형태에 따른 isoflavone 생체이용성을 평가 하고자 실시하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료 및 실험설계

농진청의 작물시험장에서 공급받은 1999년산 명주나물 콩과 이로부터 유래한 명주콩나물 및 genistein (99.7%, Sigma, St. Louis)을 주 실험재료로 사용하였다. 콩나물은 자동관수장치가 부착된 재배용기에서 자연관수방법으로 24시간 재배한 것으로 수확한 즉시 전체를 그대로 동결 건조한 다음 원료콩과 함께 분쇄기 (Cycotec 1093, Tecator, Hoganas, Sweden)로 150 mesh 크기로 분쇄한 후 실험 원료로 사용하였다.

실험설계는 genistein 함량을 기준으로 체중 kg 당 20 mg을 급여시켰다. 실험에 사용한 명주나물 콩에는 genistein과 genistin의 함량이 각각 풍건물 기준으로 124, 539.9

ug/g 수준이었고, 명주나물 콩나물 (전체)에는 각각 232, 794.2 ug/g 수준이었다. 따라서 명주나물 콩과 콩나물의 총 genistein 함량은 풍건물 기준으로 각각 437.9와 693.7 ug/g이었고, 체중 200 g 기준의 실험용 쥐에게 20 mg/kg 체중 수준으로 genistein을 급여할 경우 콩과 콩나물은 각각 9.1과 5.77 g을 급여하였다. 이 경우 총 daidzein 섭취량은 각각 44.87과 25.98 mg/kg 체중이었다. 혈액은 0시간 (급여직전), 급여 후 2, 8, 15, 24, 48시간이 흐른 후 채취하여 isoflavone 함량을 분석하였다. 분과 뇨는 isoflavone을 급여 24시간 전부터 forced-feeding 전, 급여 2, 8, 15, 32, 48시간 간격으로 채취하여 취합하여 채취하여 genistein, daidzein, equol, 4-ethyl phenol를 분석하였다.

2. 실험동물과 사육관리

실험동물은 6주령의 Sprague Dawley계 수컷 rat (체중 231 ± 12.3 g)으로 한림실험동물에서 분양받아 사용하였으며, 실험동물은 온도 24°C 정도에서 1일 12시간씩 점등 하에, 물과 사료를 자유로이 급식시키면서 사육하였다.

이들은 실험이 시작되기 7일 전부터 isoflavone-free diet를 급여 (Table 1)하였으며 실험 12시간 전부터 절식시켰다. 실험동물의 배치는 3실험군당 5반복으로 하였고, 개별적으로 대사케이지 내에서 사육하면서 실험기간 동안 혈

Table 1. Composition of isoflavones-free diets

Ingredients	%
Casein ¹⁾	15.0
Methionine ²⁾	0.25
Glucose	25.0
Corn starch	46.5
Soybean oil	5.0
Cellulose ²⁾	5.0
Choline chloride	0.2
Vitamin mixture ³⁾	0.1
Mineral mixture ⁴⁾	1.5
NaCl	0.4
Tricalcium phosphate	0.9
Limestone	0.15
Total	100.0

¹⁾ Acid casein (Australia)

²⁾ Sigma Chemical Co. (St. Louis, Mo)

³⁾ Vitamin mixture (0.2%) provides per kg of diet: Vit. A 5200 IU, Vit. D3 600 IU, Thiamin 20 mg, Riboflavin 15 mg, Pyridoxine 7.8 mg, Niacin 50 mg, Biotin 0.6 mg, Folic acid 6.0 mg, Pantothenic acid 30 mg, Vit B12 0.04 mg, Ascorbic acid 250 mg, Vit E 50 IU, Vit. K 2 mg, Inositol 100 mg, and BHT 100 mg

⁴⁾ Mineral mixture (2.5%) provides per kg of diet: K 2.0 g, Mn 115 mg, Fe 80 mg, Mg 625 mg, I 0.35 mg, Cu 8.0 mg, Zn 78.0 mg, Se 0.15 mg, Co 0.21 mg, Mo 3.3 mg and B 1.58 mg.

^{3,4)} Reference: Nutrient Requirements of Rat. National Research Council (9th edition, 1994), National Academy Press, Washington D.C.

액, 뇨와 분을 채취하였다.

3. 시료채취 및 전처리

쥐의 꼬리부분에서 혈액을 채취하여 EDTA 처리된 시험관에 혈액을 수집하여 isoflavone 분석용으로 사용하였다. 수집된 혈액은 원심분리기 (VS-4000, Vision Scientific Co.)를 이용하여 3000 rpm에서 15분간 회전시켜 혈장을 분리하여 -72℃에서 보관하였다. 뇨 (urine)는 시간별로 대사케이지 아래의 삼각플라스크를 통해 수집되었으며 수집 시 증류수로 수기와 대사케이지에 묻어있는 뇨를 씻어낸 후 뇨의 총양을 측정하였다. 분 (feces)도 시간대별로 수거하여 무게를 측정하였으며 뇨와 함께 -72℃에서 분석 전까지 보관하였다.

4. 조사 항목 및 분석방법

1) 시료 및 혈장, 뇨, 분의 isoflavones 함량 측정

King의 방법¹²⁾을 기본으로 하여 Electro Chemical Detector를 이용한 HPLC로 분석하였다. 사용한 표준물질인 genistein (99.7%), daidzein (98%) 및 β-glucuronidase (EC 3.2.1.3.1)는 Sigma사의 제품이었으며, equol은 Extrasynthese, 4-ethyl phenol (99%)은 Aldrich사 제품을 사용하였다. Methanol은 HPLC grade를 사용하였고, ethanol, ethyl ether anhydrous, acetic acid, HCl은 A.C.S. grade의 것을 사용하였으며 분석방법은 다음과 같다.

시료 200 μl에 β-glucuronidase를 1.67 × 10⁶ units가 되도록 넣은 후 0.1 mol pH 4.6 ammonium acetate를 넣어서 총 양이 600 μl이 되도록 한 다음 이를 37℃ 항온수조에서 16시간동안 정치하여 가수분해를 하였다. 여기에 900 μl diethyl ether를 넣은 후, 3000 rpm에서 15분간 원심분리를 실시하여 상층액을 분리하여 glass vial에 담고 이 과정을 두번 더 반복하여 상층액을 모아 상온에서 질소 gas로 휘발시켜 완전히 건조시킨다. 여기에 mobile phase 200 μl를 첨가하여 재용해 한 후 HPLC로 분석하였다.

2) 콩, 콩나물 및 배설분에서의 isoflavones 분석⁸⁾

(1) Free isoflavones 함량 분석

콩나물과 분을 동결 건조시킨 후 3일 이상 실온에 방치하여 풍건후 각 시료 0.3~1.0 g에 ethanol 20 ml을 넣은 후 homogenizer (IKA-Werk)로 1분간 isoflavone을 추출하였다. 이를 잘 밀봉한 후 shaking incubator 55℃에서 30분간 incubation을 하여 완전히 추출을 한 다음 냉각시킨 후 원심분리를 하여 상층액을 취하여 HPLC로 분석하

였다. 농도가 진한 경우에는 mobile phase를 첨가하여 적절히 희석한 후 분석하였다.

(2) Total isoflavones 함량 분석

Free isoflavones 함량 분석과정에서 추출된 상층액에 같은 양의 4 mol/L HCl를 screw-capped tube에 넣은 후, 끓는 물에서 30분간 conjugates 형태를 가수분해하였다. 가수액을 C18 solid phase extraction cartridge에 넣은 후 80% methanol로 추출하였다. 추출액을 mobile phase로 적절히 희석한 후 HPLC로 분석하였다 (Table 2).

Table 2. Analytical condition of genistein, daidzein, equol and 4-ethyl phenol by high performance liquid chromatography (HPLC)

Instrument	
Pump	M 910 Solvent delivery module, Young lin instrument Co.
Detector	Electrochemical detector, Shimadzu
Column heater	Temperature controller, Kukje Eng. Co
Column	MightySIL, RP-18, 250 × 4.6 mm, 5 μm, Kan-to Chemical Co.
Operating condition	
Potential	0.75 V
Column Temp.	37℃
Injection Vol.	50 μl
Flow rate	1.0 ml/min
Gradient profile	
Mobile phase 1	Methanol: 0.1 mol/L ammonium acetate (pH 4.6): 25 mmol EDTA/L = 50:50:1 by vol
Mobile phase 2	Methanol: 0.1 mol/L ammonium acetate (pH 4.6): 25 mmol EDTA/L = 40:50:1 by vol

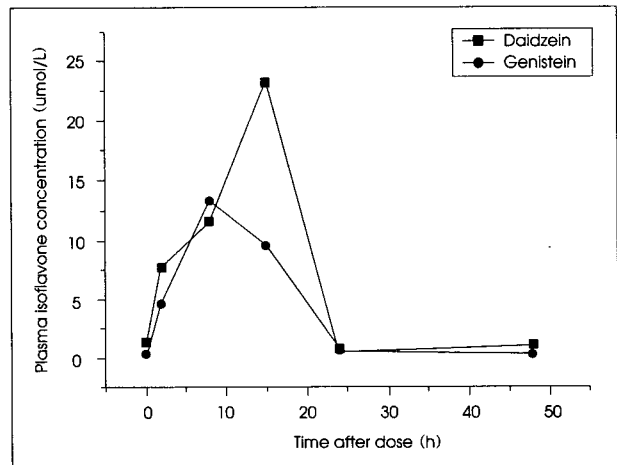


Fig. 1. Plasma concentration of genistein and daidzein from rats following a single oral dose of Myungjoonamul-kong at 20 mg/kg body weight as a genistein. Value are the mean of three rats at each time point for each treatment group. No significant observed among treatment.

5. 통계처리

모든 실험결과의 통계분석은 SAS 프로그램을 이용하여 결과는 평균 (mean)과 표준편차 (standard deviation, SD)로 표시하였다. 유의성은 general linear model (GLM)로 분석하여 Duncans multiple test에 의해 $p < 0.05$ 수준에서 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 혈장에서의 isoflavone 농도 변화

콩 급여 (Fig. 1)시 2시간 경과 후에 혈장내 daidzein의 농도가 가장 높았으나 8, 15시간 후에는 genistein의 농도가 높은 것으로 조사되었으며 ($p < 0.05$) 섭취 24시간 경과 후에는 daidzein과 genistein 모두 흡수전인 급여초기의 농도수준으로 떨어졌다. 콩나물 급여 (Fig. 2)시에도 콩 급여

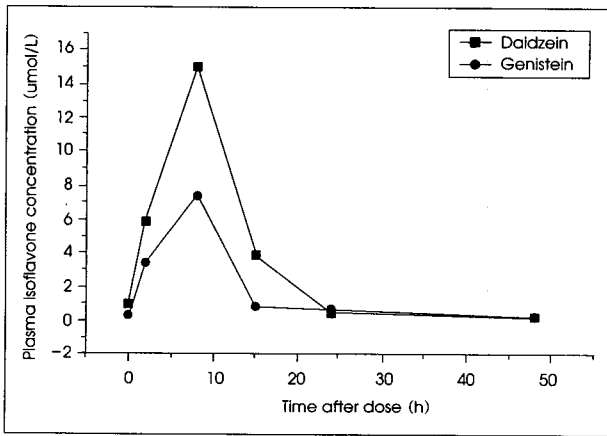


Fig. 2. Plasma concentration of genistein and daidzein from rats following a single oral dose of myungjoonamul-soy sprout at 20 mg/kg body weight as a genistein. Value are the mean of three rats at each time point for each treatment group.

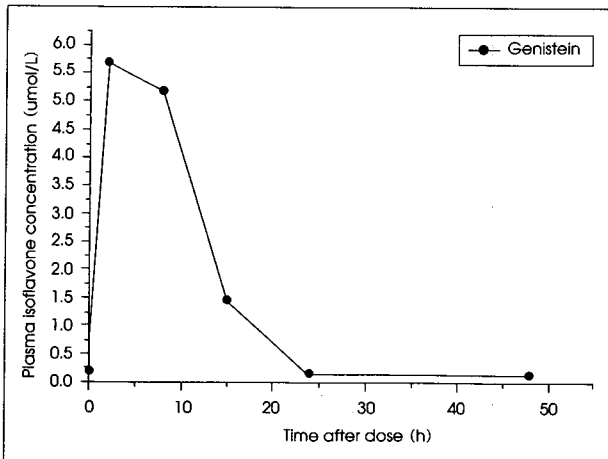


Fig. 3. Plasma concentration of genistein from rats following a single oral dose of pure genistein at 20 mg/kg body weight. Value are the mean of three rats at each time point for each treatment group. No significant observed among treatment.

군과 같이 초기에는 daidzein의 농도가 전체적 높게 나타났으나 24시간 후에는 원래의 낮은 농도로 떨어졌다.

Genistein 급여 (Fig. 3)시에는 혈장 내에서 2시간 때에 가장 높은 농도를 보였다가 15시간 경과 후에는 약간 감소하는 경향을 보이다가 24시간 후에는 원래의 낮은 수준을 나타내었다. 혈장의 daidzein의 농도 (Fig. 4)는 2시간 후에는 콩 급여군이 가장 높았으나 8시간째는 콩나물군이 가장 높지만 15시간째는 콩 군이 훨씬 높은 농도를 나타내었다. 또한 혈장의 genistein의 경우 (Fig. 5)는 2시간 때에는 콩 군이 가장 높은 농도를 나타내었다.

인체 내 대사과정에서 볼 때 aglycone인 genistein을 섭취한 경우와 배당체인 genistin을 섭취한 경우 이들 물질 간에는 약간의 차이가 있다. 즉 실험동물과 인체를 이용한 실험에서 genistein이 더 빨리 흡수되는 경향을 보이나 체내에 흡수된 총량, 즉 생체이용성에 대해서는 실험동물 간에 약간의 차이를 보이는 것으로 보고되고 있다. 즉 실험

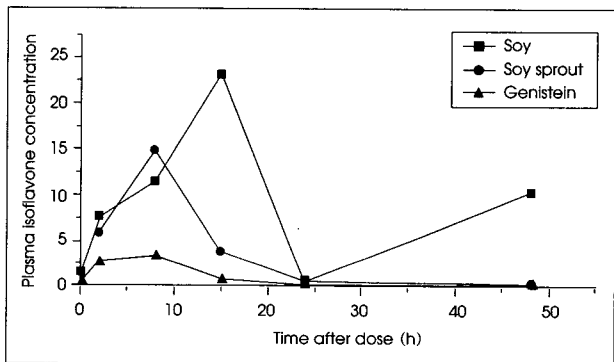


Fig. 4. Plasma concentration of daidzein from rats following a single oral dose of Myoungjoonamul-kong, Myoungjoonamul soy sprout and genistein at 20 mg/kg body weight as a genistein. Value are the mean of three rats at each time point for each treatment group.

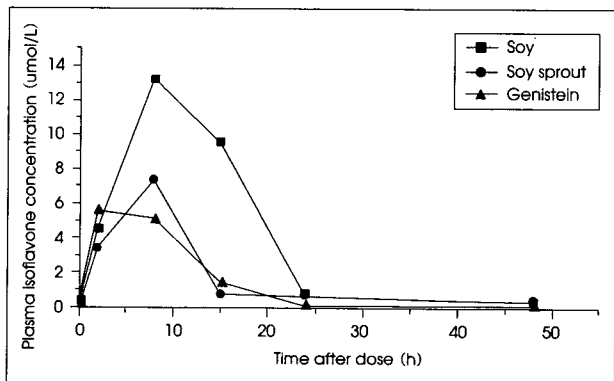


Fig. 5. Plasma concentration of genistein from rats following a single oral dose of Myoungjoonamul-kong, Myoungjoonamul soy sprout and genistein at 20 mg/kg body weight as a genistein. Value are the mean of three rats at each time point for each treatment group.

동물에서 소변에서 회수된 총량은 aglycone과 배당체 간에 큰 차이가 없었지만¹²⁾ 인체실험에서는 genistein이 소변 중 회수량이 genistin보다 더 높게 나타나 배당체가 aglycone으로 전환되었을 때 isoflavone의 생체이용성이 더 높은 것으로 보고되었다.¹³⁾

생체이용성은 실험동물이나 인체에서 isoflavones에 대한 반응 및 효과에 영향을 주는데 isoflavone 섭취 후 흡수되어 체내에 가장 높은 농도로 존재하는 시간과 체내에 머물면서 생리적 효과를 나타내는 기간, 또한 섭취 후 시간에 따른 isoflavones의 농도 변화, 즉 pharmacokinetics의 측정은 isoflavones의 생리적 작용을 규명하는 데 필수적이다. 생체이용성은 polyphenol-rich diet 섭취 후 혈액의 산화능이 증가한다는 연구에 의해 간접적으로 규명되었으며,¹⁴⁾ 순수한 isoflavones나 식품을 섭취한 후 혈액이나 뇨의 isoflavones농도를 측정함으로써 조사할 수 있다.

2. 뇨에서의 isoflavone 농도 변화

콩급여군 (Fig. 6)이 48시간동안 배설된 총량은 equol >

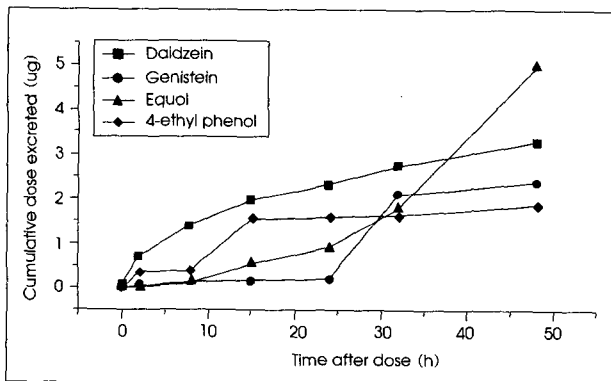


Fig. 6. Cumulative urinary excretion of genistein and daidzein from rats following a single oral dose of Myoungjoonamul-kong at 20 mg/kg body weight. Value are the mean of three rats at each time point. *P < 0.05 compared to genistein, daidzein, 4-ethyl phenol at the same time.

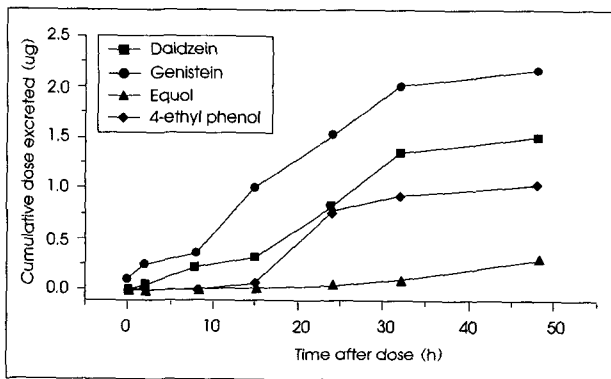


Fig. 7. Cumulative urinary excretion of genistein and daidzein from rats following a single oral dose of Myoungjoonamul-soy sprout at 20 mg/kg body weight. Value are the mean of three rats at each time point.

daidzein > genistein > 4-Ethyl phenol 순이었으며, 콩나물급여군 (Fig. 7)과 genistein 급여군 (Fig. 8)은 Genistein > daidzein > 4-ethyl phenol > equol 순이었다.

48시간동안 총 배설된 genistein (Fig. 9), daidzein (Fig. 10), equol (Fig. 11), 4-ethyl phenol (Fig. 12)은 콩급여군 > 콩나물급여군 > genistein급여군 순으로 모든 군에서

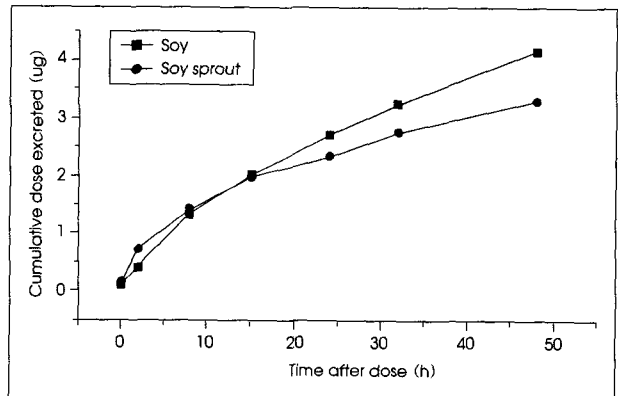


Fig. 8. Cumulative urinary excretion of genistein and daidzein from rats following a single oral dose of genistein at 20 mg/kg body weight. Value are the mean of three rats at each time point.

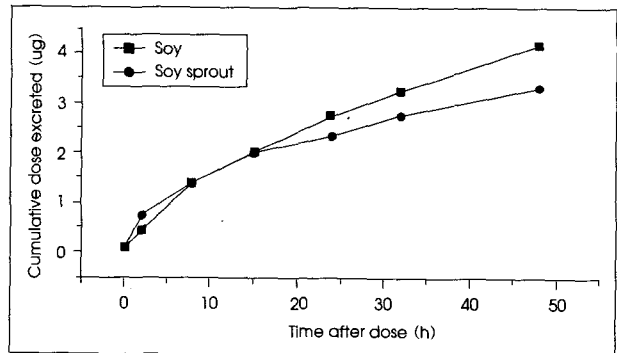


Fig. 9. Cumulative urinary excretion of daidzein from rats following a single oral dose of Myoungjoonamul-kong, Myoungjoonamul soy sprout and genistein at 20 mg/kg body weight. Value are the mean of three rats at each time point.

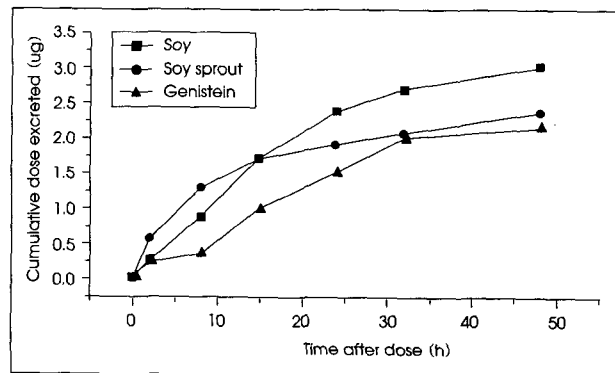


Fig. 10. Cumulative urinary excretion of genistein from rats following a single oral dose of Myoungjoonamul-kong, Myoungjoonamul soy sprout and genistein at 20 mg/kg body weight. Value are the mean of three rats at each time point.

동일한 경향을 나타내었다.

3. 배설분에서의 isoflavone 농도 변화

섭취한 genistein 양에서 분으로 48시간동안 총 회수된 정도는 soy, soy sprout, geinstein의 군에서 각각 19.5, 7.5 및 15.7%로써, soy, geinstein, soy sprout 순으로 나타났다. 이를 일반 소화율 개념으로 나타내면 다음 Table 3과 같다. 일반 소화율이란 섭취된 식이가 흡수되지 않고 배설분으로 나간 것을 제외한 개념으로, 100에서 위의 회수율 (%)을 뺀 값과 같다. 이 개념으로 보면 soy sprout의 소화율이 가장 높으며, 그 다음으로 genistein, soy군의

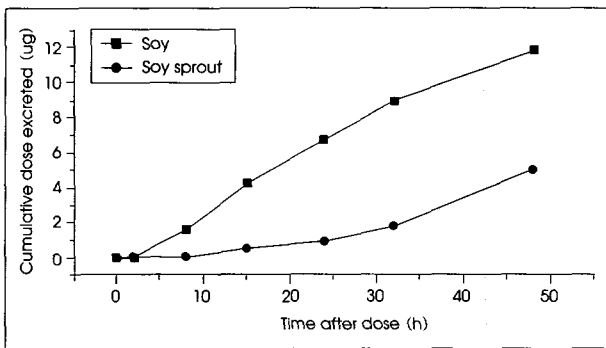


Fig. 11. Cumulative urinary excretion of equol from rats following a single oral dose of Myoungjoonamul-kong, Myoungjoonamul soy sprout and genistein at 20 mg/kg body weight. Value are the mean of three rats at each time point.

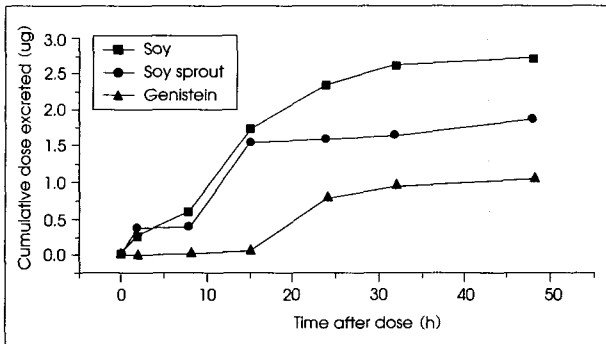


Fig. 12. Cumulative urinary excretion of 4-ethyl phenol from rats following a three rats at each time pointsingle oral dose of Myoungjoonamul-kong, Myoungjoonamul soy sprout and genistein at 20 mg/kg body weight.

Table 3. Digestibility of genistein and daiazein in soybean, soybean sprout, genistein

Sample	Genistein		Daidzein	
	Digestibility (%)	Recovery ratio (% from urine)	Digestibility (%)	Recovery ratio (% from urine)
Soybean	80.5	21.2	93.1	18.43
Soybean sprout	92.5	18.2	93.93	6.93
Genistein	84.3	16.1	-	-

순이었다. Daidzein의 경우에는 genistein보다 soy군과 soy sprout군이 소화율이 1.1배 높은 것으로 조사되었다(Fig. 13-16).

생체이용성 (bioavailability)이란 섭취 후 흡수 (absorp-

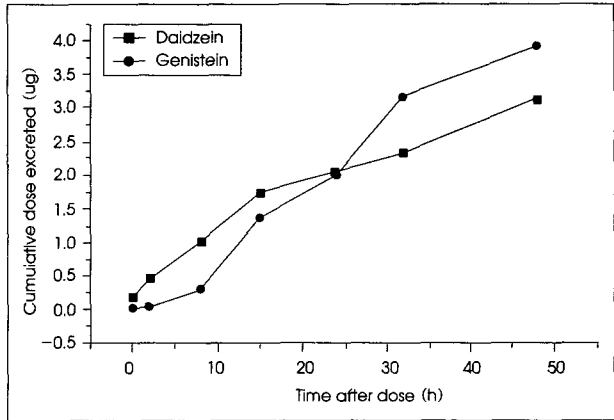


Fig. 13. Cumulative fecal excretion of genistein and daidzein from rats following a single oral dose (20 mg/kg body weight) of Myoungjoonamul-kong. Data at each time point are a mean values of three rats.

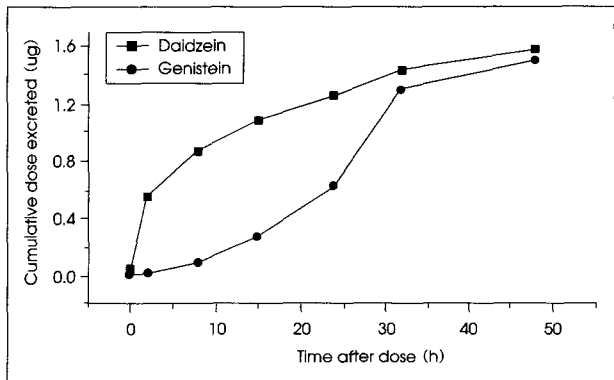


Fig. 14. Cumulative fecal excretion of genistein and daidzein from rats following a single oral dose (20 mg/kg body weight) of Myoungjoonamul soy sprout. Data at each time point are a mean values of three rats. *P < 0.05 compared to genistein, daidzein, 4-ethyl phenol at the same time.

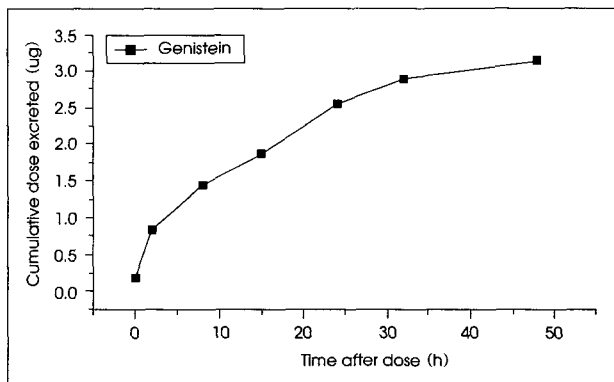


Fig. 15. Cumulative fecal excretion of genistein and daidzein from rats following a single oral dose (20 mg/kg body weight) of genistein. Data at each time point are a mean values of three rats.

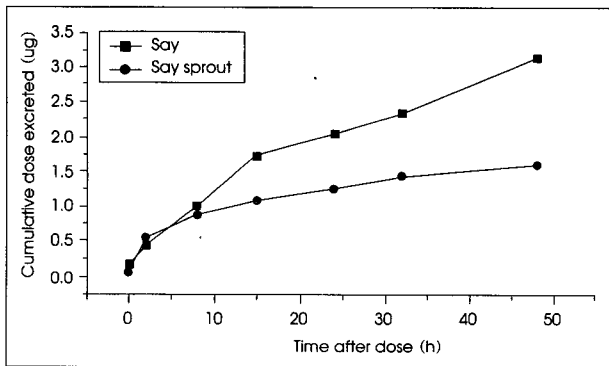


Fig. 16. Cumulative fecal excretion of genistein from rats following a single oral dose of Myoungjoonamul-kong, Myungjoonamul soy sprout and genistein at 20 mg/kg body weight. Value are the mean of three rats at each time point.

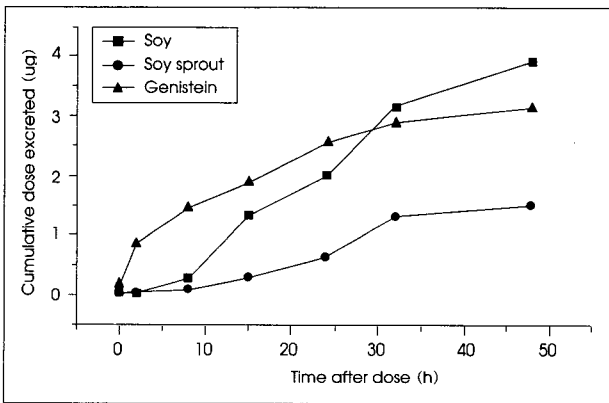


Fig. 17. Cumulative fecal excretion of daidzein from rats following a single oral dose of Myoungjoonamul-kong, Myungjoonamul soy sprout and genistein at 20 mg/kg body weight. Value are the mean of three rats at each time point.

tion) 만을 의미하는 것이 아니라 생체 내에서의 분배 (distribution), 장에서의 bioconversion이나 간에서의 biotransformation 등의 대사 (metabolism) 및 제거 (elimination) 를 총체적으로 포함하는 의미로 생체 내에서 어느 정도가 흡수되고 이용되는지, 어느 기간 동안 머물면서 생리적 효과를 나타내는지에 대한 조사를 기초로 한다. 특히 isoflavone 섭취 후 체내에 가장 높은 농도로 존재하는 시간과 그 이후의 isoflavone 농도 변화를 알아봄으로써 생체 내에서 어떻게 이용되는지에 대한 pharmacokinetics를 측정할 수 있으며, 이는 isoflavones의 생리적 작용을 규명하는데 필수적이다. Isoflavone의 생체이용성은 종마다 간과 상피세포의 conjugation의 형태가 다르기 때문에 종별간에 차이가 있다.^{19,20)} Isoflavones가 흡수가 되기 위해서는 conjugation이 되어야 하며 conjugation형태는 사람²⁴⁾과 동물²⁵⁾에서 보여지는 반응이 매우 다르다. 생체이물 (xenobiotics)의 대부분은 간에서 분자의 용해도가 증가되어 노나 담즙으로의 배출되는 대사과정을 거친다.

Isoflavones을 포함한 polyphenols의 흡수와 대사과정에서, 섭취된 polyphenols은 위산에 의해 부분적으로 가수분해되거나⁴⁾ lactobacilli, bifido-bacteria 같은 혐기성 gut bacteria 의해 deconjugation 된다. 이로써 생물학적 활성을 갖게 되며 소장근위부 (proximal small intestine)에서 흡수되거나 gut bacteria에 의해 대사가 되어 equol (daidzein의 주요 대사산물)이나 4-ethyl phenol (genistein의 주요 대사산물)을 형성한다.^{12,15)} 특히 equol은 daidzein보다 더욱 estrogenic 하여 강력한 효과를 가진다고 알려져 있다. 흡수된 isoflavones는 간문맥 (portal vein)으로 들어가서 장관순환(enterohepatic circulation)을 통과하면서 주로 glucuronic acid conjugate형태로 담즙 (bile)과 함께 배설된다.¹⁵⁾ 장내로 흡수된 isoflavones는 간에서 re-conjugation되어 뇨와 담즙으로 isoflavone glucuronides 형태로 배설된다. 이를 위해서는 위와 소장과 대장의 상피세포에서 흡수가 이루어져야 하며 흡수되어 혈액에 유입된 isoflavones는 간으로 이동되는 경로를 거치며 간의 isoflavone은 glucuronic acid나 sulfate 형태로 conjugation되어 혈액으로 분배되고 결국 노나 담즙으로 배설된다. 종마다 노나 담즙으로 배설되는 농도와 분비하는 분배정도가 다른데 주요요인은 aglycone의 분자량이다. 쥐의 경우 분자량이 250이나 그보다 적은 것은 glucuronidation되어 뇨로 배설되고 250보다 큰것은 glucuronidation 된 후 담즙으로 배설되는 것으로 알려져 있다.¹⁶⁾

Daidzein과 genistein의 분자량은 각각 254.23과 270.23이다. 따라서 소장 안으로 들어온 isoflavone은 재흡수되거나 미생물에 의한 degradation을 거쳐 분으로 배설된다. 뇨로 배설되는 isoflavone은 주로 glucuronidated conjugates이고 소량의 sulfate conjugates가 배설되는 것으로 알려져 있다.¹⁷⁾ 돼지는 단위동물 이어서 인간을 위한 실험 모델로 활용되고 있는데 돼지에게 콩과 붉은 클로바를 섞은 식이를 급여한 실험결과에서는 급여 후 1시간대에 혈액 내에 최대 수준을 보여 위장에서 흡수가 빠르게 일어났음을 보여주었다.¹⁸⁻²⁰⁾ 인체에서의 isoflavone 이용성에 대해서는 4명의 여자와 2명의 남자에게 채식을 섭취시킨 후 뇨를 통한 daidzein과 genistein의 배설 형태 등으로 조사한 결과에서⁷⁾ daidzein은 뇨로 monoglucuronides (79~82%), sulfoglucuronides (6~17%), aglycone (1~5%)형태로 배설되었으며 genistein은 monoglucuronides (2~15%), diglucuronides (12~26%), sulfoglucuronides (2~15%), disulfate (1~4%) 형태로 배설되었고 daidzein은 박테리아에 의해 equol과 O-desme-thylangolensin형태로 대사되는데 이 비율에 관해 각 개인마다 독특한 비율을 보인

것으로 조사되었다.

Equol은 뇨로 배설되는 총 isoflavone의 1%가 안 되는 양이 배설되었으며 monoglucuronides (32~93%), sulfolglucuronides (0~43%), monosulfate (0~15%), 그리고 disulfates (0~10%) 만큼 배설되었다. *O*-desmethyl angelensin은 주로 monoglucuronides (97%)로 배설되고 나머지 3%는 다른 형태로 배설되었으며⁷⁾ 일부의 genistein과 daidzein은 미생물의 분해과정을 통해 다른 물질로 전환하지만 전환물질에 대해 아직 밝혀지지 않았으며²¹⁾ 이 물질의 규명이 생물학적 활성을 밝히는데 도움을 줄 것으로 추정되고 있다.

Wiseman²²⁾은 두류의 isoflavone의 생체이용성에 영향을 주는 요인을 보고한 바가 있으며 Xu 등²⁰⁾은 성인 여성에게 두유를 섭취시켰을 때 daidzein이 genistein 이보다 더욱 생체이용성이 높다고 보고하였으며 개개인의 장내 세균에 따라 두유의 흡수율이 13~35%까지 다르다고 보고하였다. Watanabe 등²³⁾은 7명의 일본 남성에게 60 g의 구운 콩가루(kinato-genistein 103 μmol = 27.8 mg, daidzein 112 μmol = 28.5 mg)를 섭취시킨 후 72시간 동안 혈액과 뇨, 변에서의 genistein, daidzein, equol, *O*-desmethylnangelensin의 kinetic curve를 gas chromatography-mass spectrometry를 이용하여 조사한 결과, 혈장의 genistein과 daidzein은 6시간대에 최대 peak를 보이며 이때의 농도는 각각 2.44 $\mu\text{mol/L}$, 1.56 $\mu\text{mol/L}$ 로 보고되었다. Equol과 *O*-DMA의 혈장 최대 peak는 daidzein의 peak 후에 나타났다. 그러나 혈장에서와는 달리 뇨에서는 대부분이 daidzein이었으며 뇨를 통한 회수는 daidzein이 35.8%, genistein이 17.6%였다. 분으로의 회수는 2.9~4.6%로 나타났으며 이러한 함량은 개개마다 많은 변이를 보였다.

Xu 등²¹⁾의 연구에서는 daidzein 함량이 더 많은 두유를 여성에게 섭취시켰을 때 혈장의 genistein과 daidzein의 농도가 비슷하게 나타났으며 뇨에서는 daidzein의 함량이 더 많은 것으로 보고되었다. 뇨를 통한 회수는 daidzein 21%, genistein은 9%로 나타났으며 분으로의 회수는 1~2%였다. 뇨와 변을 통한 isoflavone과 그의 대사산물의 배설은 daidzein이 54.7%, genistein이 20.1%였으며, King 등¹²⁾은 쥐에게 20 mg의 genistein를 aglycone형태로써 순수한 genistein과 glycoside형태로써 콩을 에탄올로 추출하여 급여시켰을 때 비슷한 흡수율을 나타내었다고 보고하였으며 혈장의 농도가 aglycone형태일 때 더 빨리 높아지나 48시간까지 보았을 때는 형태간에 차이가 없는 것으로 나타났다. 한편 쥐는 분으로 steroids를 배설하기 때문에 뇨로는 17.5~19.9%, 분으로는 21~22%의 genistein 회수

율을 보였다. 소변에서 회수된 총량은 aglycone과 conjugate 간의 큰 차이는 보이지 않았다. Hutchins 등¹³⁾은 aglycone과 conjugate형태를 인체에게 섭취시켰을 때 소변 중 회수량이 genistein 보다 더 높게 나타나 conjugate 형태가 aglycone으로 전환되었을 때 isoflavone의 생체이용성이 더 높았다고 보고하였다.

요 약

쥐에게 콩과 콩나물, 순수한 genistein을 함유되어 있는 genistein 함량을 기준으로 동일하게 급여 (20 mg/kg) 시켰을 때, 체내에서 흡수가 되는 속도는 soy, soy sprout, pure genistein군의 순이며 일반소화율은 soy sprout, pure genistein, soy군의 순이었다. 이로써 soy의 genistein은 쉽게 흡수되고 배설되며, 또한 전혀 흡수되지 않고 배설분으로 나오는 양도 세 그룹 중 가장 많은 것을 알 수 있었다. 이는 담즙 등으로 재순환되지 않는 양이 다른 그룹보다 많기 때문이라고 추정되었다. 따라서 생리기능상의 목적으로 isoflavone을 섭취하고자 할 때에는 콩보다는 콩나물형태로의 섭취가 타당할 것으로 생각되며 정확한 결과를 위해서도 사람이 섭취하는 상태의 콩과 콩나물의 isoflavones의 흡수율을 조사할 필요성이 있을 것으로 생각되었다.

Literature cited

- 1) Anderson RL, Wolf WJ. Compositional changes in trypsin inhibitors, phytic acid, saponins and isoflavones related to soybean processing. *J Nutr* 125: 581S-588S, 1995
- 2) Coward S, Barnes NC, Setchell KDR, Barnes S. Genistein, daidzein and their glucoside conjugates: Antitumor isoflavones in soybean foods from American and Asian diets. *J Agric Food Chem* 31: 394-396, 1993
- 3) Fotsis Bradbury RB, White DE. Estrogen and related substances in plants. In Harris RS, Marrian GF, 1995
- 4) Adlercreutz, H, Hamalainen E, Gorbach S, Goldin B. Dietary phytoestrogens and the menopause in Japan. *Lancet* 339: 123, 1992
- 5) Adlercreutz, H, Honjo H, Higashi A, Fotsis T, Hamalainen E, Hasegawa T, Okada H. Urinary excretion of lignans and isoflavonoid phytoestrogens in Japanese man and woman consuming a traditional Japanese diet. *Am J Clin Nutr* 54: 1093-1100, 1991
- 6) Adlercreutz H, Bannwart C, Wahala K, Mahala T, Brunow G, Hase T, Arosemena PJ, Kellis J, Vickery LE. Inhibition of human aromatase by mammalian lignans and isoflavonoid phytoestrogens. *J Steroidiochem Mol Bio* 44: 147-153, 1993
- 7) Adlercreutz H, Van der Wildt J, Kinzel J, Attalla H, Wahala K, Makela T, Hase T, Fotsis T. Lignan and isoflavonoid conjugates in human urine. *J Steroid Biochem Molec Biol* 52(1): 97-103,

- 1995
- 8) Wang H, Murphy PA. Isoflavone content in commercial soybean foods. *J Agric Food Chem* 42: 1666-1673, 1994a
 - 9) Kim SR, Kim SD. Studies on soybean isoflavones: 1. Content and distribution of isoflavons in Korea soybean cultivar. *RDA J of Agric Sci* 38: 155-165, 1996
 - 10) Setchell KDR, Cassidy A. Dietary isoflavones: biological effects and relevance to human health. *J Nutr* 129: 758S-767S, 1999
 - 11) Murkies AL, Wilcox G, Davis SR. Phytoestrogen-clinical review. *J Clin Endocrinol Metab* 83: 297-303, 1998
 - 12) King RA, Broadbent JL, Head RJ. Absorption and excretion of the soy isoflavone genistein in rat. *J Nutr* 126: 176-182, 1996
 - 13) Bingham SA, Atkinson C, Liggins J, Bluck L, Coward A. Phytoestrogens: where are we now? *Br J Nutr* 79: 393-406, 1998
 - 14) Yamazaki I. Effect of ipriflavone on the response of uterus and thyroid to estrogen. *Life Sci* 38: 757-764, 1996
 - 15) Setchell KDR, Borriello SP, Hulme P, Axelson M. Nonsteroidal estrogens of dietary origin: possible roles in hormone-dependent disease. *Am J Clin Nutr* 40: 569, 1984
 - 16) Sipes GI, Gandolfi JA. Biotransformation of toxicants. In: *General Principles of Toxicology* Cassarrett & Doull's Tox. Basic Sci Poisons, 1991
 - 17) Rowland I, Faughnan M, Hoey L, Wahala K, Wiliamson G, Cassidy A. Bioavailability of phyto-estrogens. *British J Nutr* 89 (suppl. 1) : S45-S58, 2003
 - 18) Payne RL, Bidner TD, Southern LL, Geaghan JP. Effect of dietary soy isoflavones on growth, carcass traits, and meat quality in growing-finishing pigs. *J Anim Sci* 79: 1230-1239, 2001
 - 19) Lundh TJ, Pettersson H, Kiessling K. Demethylation and conjugation of formononetin and daidzein in sheep and cow liver microsomes. *J Agric Food Chem* 36: 22-25, 1988
 - 20) Lundh TJ, Pettersson H, Kiessling K. Liquid chromatographic determination of the estrogens daidzein, formononetin, coumestrol and equol in bovine plasma and urine. *JAOAC* 71: 938-941, 1988
 - 21) Xu X, Harris KS, Wang HJ, Muphy PA, Hendrich S. Bioavailability of soybean isoflavones depends upon gut microflora in women. *J Nutr* 125: 2307-2315, 1995
 - 22) Wiseman H. The bioavailability of non-nutrient plant factors: dietary flavonoids and phytoestrogens. *Proceedings of the Nutri Society* 58: 139-146, 1999
 - 23) Watanbe T, Kondo K, Oishi M. Induction of in vitro differentiation of mouse erythroleukemia cells by genistein, an inhibitor of tyrosine prokinase. *Cancer Res* 51: 764, 1991
 - 24) Cassidy A, Bingham S, Setchell KDR. Biological effect of a diet of soy protein rich in isoflavones on the menstrual cycle of premenopausal women. *Am J Clin Nutr* 60: 333-340, 1994
 - 25) Adams NR. Detection of the effects of phytoestrogens on sheep and cattle. *J Anim Sci* 73: 1509-1515, 1995