

## 대두 이소플라본 섭취수준이 난소절제한 흰쥐에서 Daidzein과 Genistein의 뇨와 변 중 배설에 미치는 영향

남혜경 · 김선희<sup>†</sup>

국민대학교 식품영양학과

### Effects of Soy Isoflavone Intake on Urinary and Fecal Excretion of Daidzein and Genistein in Ovariectomized Rats

Hae-Kyung Nam and Sun-Hee Kim<sup>†</sup>

Dept. of Foods and Nutrition, Kookmin University, Seoul 136-702, Korea

#### Abstract

This study was performed to determine the effect of three different concentrations of soy-isoflavones on excretions through urine and feces in either sham-operated or ovariectomized female rats. Seventy-two 16-week old Sprague-Dawley rats underwent sham operation or bilateral ovariectomy. They were provided diets containing different levels of soy isoflavones for 6 weeks: 50 ppm (low isoflavone intake; LI), 250 ppm (medium isoflavone intake; MI) and 500 ppm (high isoflavone intake; HI). The subsequent fecal and urinary excretions of daidzein and genistein were then measured. In the sham operated rats, body weight gains and food efficiency ratio of the MI and HI groups were significantly lower than control group, while food intake was not different. However, there was no significant difference in ovariectomized rats. The fecal excretion of daidzein was significantly higher in the HI group than the LI and MI groups, and that of genistein increased as dietary isoflavone intakes increased in both the sham operation and ovariectomy. The reverse tendency of fecal recovery was shown with dietary isoflavone dose only in genistein among ovariectomized rats. When dietary isoflavones were increased from 50 ppm to 500 ppm, the amounts of daidzein and genistein in the urine increased dose-dependently. The higher intakes of isoflavones led to lower recovery rates of daidzein and genistein in the urine in the sham-operated rats but not in the ovariectomized rats. The urinary recovery was significantly higher in the LI group than the MI and HI groups in the sham-operated rats. The excreted amounts and recovery of the two isoflavones in the urine were higher in the sham operated groups than in the ovariectomized groups, which implied an increased bioavailability of isoflavones by ovariectomy. Therefore, the results suggest that a more efficient use of soy isoflavones in ovariectomized conditions may occur, which indicates that a higher dose of soy isoflavones is necessary for the postmenopausal states.

**Key words:** daidzein, genistein, urinary excretion, feces, recovery

#### 서 론

최근 역학조사에서 대두식품을 아시아인에 비해 적게 섭취하는 서구인에게서 유방암, 전립선암 그리고 골다공증 등 호르몬과 관련된 질환과 심혈관질환의 발병률이 매우 높은 것으로 밝혀짐에 따라 대두에 함유된 생리활성물질에 대한 관심이 매우 높아지고 있다(1). 대두의 생리활성물질로 주목을 받고 있는 이소플라본 성분은 콩에 약 0.1~0.4% 정도 함유되어 있다(2). 이소플라본은 여러 가지 약리적 성질을 가지고 있는 것으로 알려져 있는데 항암효과뿐만 아니라 low density lipoprotein(LDL) 콜레스테롤 수준을 감소시키는 항고지혈증 인자로, 그리고 골다공증을 예방하고 진행을 억제하는 물질로 알려졌다(3,4).

이소플라본은 식물계에 광범위하게 존재하는 diphenol 화합물로서 daidzein, genistein 그리고 glycitein으로 구성되어 있으며 내인성 생식 호르몬인 에스트로겐과 그 구조와 분자량이 유사하여 phytoestrogen이라고도 한다(5,6). 이소플라본은 에스트로겐과 유사한 구조로 에스트로겐 수용체와 결합하여 여러 조직에서 에스트로겐 활성을 나타낸다. 그러나 이소플라본이 결합하는 에스트로겐 수용체는 조직에 따라 종류가 다르며 결합력도 다르다고 알려져 있다.  $\beta$  형태의 에스트로겐 수용체(ER- $\beta$ )가 많이 분포되어 있는 뼈와 혈관에서는 이소플라본이 에스트로겐 수용체와 결합하여 에스트로겐의 효과를 나타내어 골다공증과 동맥경화 예방효과를 나타내지만, 자궁내막과 유방 등  $\alpha$  형태의 에스트로겐 수용체(ER- $\alpha$ )가 많이 분포된 곳에서는 이소플라본이 에스

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail: shkim@kookmin.ac.kr  
Phone: 82-2-910-4773, Fax: 82-2-911-4771

트로젠 수용체에 길항제로 작용하여 항에스트로겐의 효과를 나타내어 자궁내막과 유방조직의 증식을 억제한다(7,8). 이소플라본의 한 종류인 genistein의 에스트로젠 수용체에 대한 결합력은 수용체의 형태에 따라 달라서 ER- $\beta$ 에 대한 결합력은 에스트로겐의 87%에 반해서 ER- $\alpha$ 에 대한 결합력은 4%에 지나지 않는다고 한다(9). 따라서 이소플라본 섭취가 폐경기 여성의 에스트로젠 요법의 대안으로 제안되어 왔다(10). 폐경 이후의 여성에게 1일 90 mg 이소플라본이 함유된 대두 단백질을 6개월간 섭취시켰을 때 요추의 골밀도가 증가되었으며(11) 폐경전의 여성에게 80 mg의 이소플라본을 함유한 대두 단백질을 섭취시켰을 경우 유청 단백질을 섭취한 대조군에 비해 요추의 골밀도와 골량이 증가되는 것을 보여 주므로 대두 이소플라본이 폐경기 전후의 여성에게 요추의 골손실을 줄어줄 수 있다(12).

난소를 절제한 동물의 경우 에스트로겐이 결핍된 상태에서 genistein을 1일 0.7 mg 투여하면 자궁세포의 증식 없이 대퇴부의 골손실을 예방하는 것을 보여준 반면에 5 mg의 투여는 자궁세포의 증식을 가져왔다(13,14). 그러므로 이소플라본의 섭취는 뼈 조직과 자궁에 영향을 줄 수 있다.

이소플라본의 성분인 genistein과 daidzein은 대두에서 glycosides 형태로 존재한다(15). 이 glycosides는 섭취하였을 경우, 위산과 장내 미생물의 효소에 의해 가수분해되어 aglycon 형태로 활성화되어 체내에서 이용된다(16). 장내에서 흡수가 안된 이소플라본은 박테리아에 의해 분해되어 대변으로 배설되며 장을 통과하여 흡수되어 들어간 이소플라본은 체내에서 이용된 후 소변으로 배설된다(17). Genistein, daidzein, 그리고 daidzein의 대사물인 equol과 *O*-desmethyldaidzein(*O*-DMA), genistein의 대사물인 6'-hydroxy-*O*-DMA는 이소플라본 함유 식품을 섭취한 후 소변에서 발견되는 화합물이다(18,19).

체내에서 이소플라본의 흡수 및 배설 등 생물학적 이용은 이소플라본의 섭취수준에 따라 달라지며, 장내 미생물의 조건과도 관련이 된다. Slavin 등(20)은 성인에게 0, 5, 10, 20 g의 대두 단백질(0~36 mg 이소플라본)이 함유된 식이를 9일 간 제공하였을 때 뇨 중 daidzein, genistein, equol, 그리고 total isoflavonoid 배설량이 식이 내 대두 단백질의 수준과 유의적인 양의 상관관계를 보여주었다. 대두 섭취가 많은 일본인을 대상으로 조사한 또 다른 경우에서도 이소플라본의 뇨 중 배설량은 대두 단백질 섭취량과 유의적인 양의 상관관계를 나타냈다(21). 성인 여성을 대상으로 이소플라본의 함유량이 다른 세 종류의 두유를 제공하고 뇨와 변을 통한 이소플라본의 배설량을 측정하는 연구(22)에서 보면 변을 통한 이소플라본의 배설량이 많은 대상과 변 중 배설량이 적은 대상 모두 이소플라본의 섭취량이 많을수록 뇨 중 배설량은 증가되고 회수율은 감소되었다. 같은 연구에서 변 중 배설된 이소플라본을 이용하여 혐기성 배양을 하였더니 장내 daidzein과 genistein의 반감기는 각각 7.5, 3.3시간으로

다르게 나타났다. 따라서 인체에서 이소플라본의 생체 이용성(bioavailability)은 장내 미생물이 이들 물질을 분해하는 상대적 능력에 달려있다고 보며, 대두의 발효여부가 이소플라본의 이용성에 영향을 미칠 수도 있다(23). 대두가 발효과정에서 *Rhizopus oligosporus*와 같은 미생물에 의해서 대두 성분의 구조가 변화되어 이소플라본의 소화율이 증진되고 이소플라본의 이용성이 증가되었기 때문으로 생각된다(24-26). 한편 폐경 후 건강한 여성에게 한달간 genistein을 체중 kg당 2, 4, 8, 16 mg으로 과량 투여하고 독성을 살펴보았는데 임상적 독성은 거의 나타나지 않았으며 약리 역학적 조사에서도 이소플라본의 점차적인 체내 축적도 볼 수 없었다(27). 따라서 체중 kg당 16 mg의 많은 양을 한달간 섭취하여도 장기 복용에 따른 독성은 없는 것으로 짐작된다.

이소플라본의 체내에서의 생리활성이 알려지면서 이소플라본을 함유한 건강보조식품들이 판매되고 있으며 두유 소비가 꾸준히 증가되고 있는 추세이다. 그럼에도 불구하고 일상 식사에서 이소플라본 섭취량을 분석한 연구(28,29)가 일부 있으나 섭취 증가와 체내 이용성의 관련성에 관한 연구는 아직 미비한 실정이다. 그리고 폐경 여성의 경우 에스트로겐 분비 부족의 대안으로 이소플라본 함유량이 많은 건강보조제를 이용하고 있지만 이소플라본의 적정수준에 관한 연구가 부족하다.

그러므로 본 연구에서는 암컷 흰쥐를 대상으로 대두 이소플라본의 첨가수준이 다른 식이를 6주간 공급한 후 뇨와 변에서 daidzein과 genistein의 배설량을 측정하여 생체 이용성을 살펴보고자 하였으며, 난소절제 여부에 따른 차이가 있는지도 알아보려고 하였다.

## 재료 및 방법

### 실험동물의 사육

실험동물은 체중 250~270 g, 16주령 Sprague-Dawley종 암컷 흰쥐 72마리를 대한 바이오링크 주식회사(Eumsung, Korea)에서 구입하여 온도  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ , 상대습도  $65 \pm 5\%$ , 12시간의 낮밤 주기로 조절된 환경에서 물과 실험식이를 자유급식으로 공급하면서 1주간 적응시켰다. 실험군은 sham 수술과 난소절제로 각기 나누어서 수술을 시행하고 2주간 회복기간을 둔 후 평균체중이 sham 수술군은 288 g, 난소절제군은 272 g이었는데 체중에 따라 난피법으로 9마리씩 4군으로 나누어서 6주간 사육하였다. 물과 실험식이는 자유급식하였다.

### 실험동물의 수술

실험동물은 sham 수술과 난소절제로 나누어서 12시간 절식을 시킨 다음 ketamin(50 mg/mL, 유한양행) 마취제를 복강에 주입하여 마취를 시켰다. Povidone iodine과 70% ethanol로 소독을 하고 피부, 복막, 복근의 순서로 절제를 한 후 난관을 멸균 봉합사 4호(Chromic, Ailee Co., Busan, Korea)로 묶은 후 난소를 제거하고 복근, 복막, 피부 순으로 봉합하

였다. 피부는 봉합사 3호(blue nylon, Ailee Co., Busan, Korea)로 봉합하였다. 감염을 막기 위해 다시 povidone iodine과 fucidin으로 수술부위를 소독하였다. Sham 수술은 복막 절개까지만 난소절제와 동일한 방법으로 처치하고 실제 난소를 절제하지 않은 채로 봉합하였다.

**실험식이**

실험식은 American Institute of Nutrition(AIN-93G)식이(30)를 기준으로 이소플라본을 실험군에 따라 각기 0 ppm(control), 50 ppm(low isoflavone intake; LI), 250 ppm (medium isoflavone intake; MI), 500 ppm(high isoflavone intake; HI)로 첨가하였다(Table 1). 이소플라본의 첨가량은 미국의 식품의약청(Food and Drug Administration)이 권장하는 대두 단백질의 섭취 수준인 1일 25 g을 근거로 하여 이소플라본 함량은 50 mg으로 계산하였으며, 또한 한국인의 일상적 섭취수준인 30 mg(31)을 고려하였다. 이를 미국인과 한국인의 표준체중을 고려하여 체중 kg당 mg으로 환산하였다. 식이 첨가량은 실험동물의 체중 및 식이 섭취량을 고려하여 계산하였으며 사용한 이소플라본 제품의 순수 이소플라본 함유율을 고려하여 0.025% 첨가하여 LI군으로 결정하고 그것의 5배 첨가를 MI군으로, 10배 첨가를 HI군으로 각기 정하였다. 실험 식이에 사용한 이소플라본 powder는 대두배아에서 추출한 것으로 aglycone 형태의 이소플라본이 32.18%(genistein 3.76%, daidzein 19.33%, glycitein 9.09%) 함유된 분말형태를 신동방 주식회사(Ansan, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 실험에 사용한 vitamin mixture와 mineral mixture는 Harlan Teklad(Madison, USA) 제품을, cellulose, DL-methionine choline chloride는 Sigma(St. Louis, USA), casein은 Junsei Chemical(Tokyo, Japan) 제품이며,

옥수수 전분은 대상주식회사(Seoul, Korea), 설탕은 CJ주식회사(Incheon, Korea), 옥수수유는 대상주식회사(Seoul, Korea) 등에서 구입하여 사용하였다. 식이 섭취량은 2~3일에 한번씩 측정하였으며 체중은 실험 전 기간 1주일에 한번씩 측정하였다. 체중은 식이 섭취에서 오는 갑작스러운 체중의 변화를 막기 위해 밥그릇을 빼고 2시간 후에 측정하였다. 식이효율(food efficiency ratio; FER)은 일정기간의 체중증가량을 동일 기간 섭취한 식이량으로 나누어 산출하였다.

**시료수집**

소변과 대변의 수집은 실험식이 급여 5주째에 실험동물들을 대사장에 1마리씩 옮겨서 24시간 수집하였다. 소변은 총 부피를 측정 후 30 mL로 맞추어 냉동 보관하여 분석하였으며, 대변은 털과 이물질을 제거한 후 총 무게를 측정하고 분석 전까지 냉동 보관하였다.

**시료분석**

**뇨 중 daidzein과 genistein의 분석**: 뇨 중 daidzein과 genistein의 배설량은 Record 등(32)의 방법을 변형하여 reversed-phase high performance liquid chromatography (HPLC)를 이용하여 분석하였다. 소변시료 20 µL에 β-glucuronidase(1,670 unit/mL)가 함유된 0.17 M ammonium acetate(pH 4.6) 40 µL를 넣어서 37°C 항온수조에서 16시간 배양하여 이소플라본을 완전히 가수분해하였다. Ethyl ether 100 µL를 첨가한 후 잘 교반하고 5,000 rpm에서 15분간 원심 분리하여 상층액을 수거한 후 이 과정을 한번 더 반복하여 이소플라본을 추출하였으며 상층액을 상온에서 N<sub>2</sub> gas로 휘발시켰고 methanol 30 µL에 재용해시켜서 HPLC(model #600, Waters, USA)에 주입하였다. Column은 reversed

**Table 1. Composition of experimental diets** (g/kg diet)

Ingredients	Control	LI <sup>1)</sup>	MI	HI
Corn starch	529.486	529.336	528.736	527.986
Sucrose	100	100	100	100
Cellulose	50	50	50	50
Casein	200	200	200	200
L-Cystine	3	3	3	3
Corn oil	70	70	70	70
Mineral mixture <sup>2)</sup> (AIN-93G)	35	35	35	35
Vitamin mixture <sup>3)</sup> (AIN-93VX)	10	10	10	10
Choline bitartrate	2.5	2.5	2.5	2.5
T-Butylhydroquinone	0.014	0.014	0.014	0.014
Isoflavone powder	0	0.15	0.75	1.5
Total	1,000	1,000	1,000	1,000

<sup>1)</sup>LI: low isoflavone intake, MI: medium isoflavone intake, HI: high isoflavone intake.  
<sup>2)</sup>Mineral mixture provides calcium carbonate, 12.5 g; sodium chloride, 2.59 g; potassium citrate, 2.48 g; potassium phosphate, 6.86 g; potassium sulfate, 1.63 g; magnesium oxide, 0.85 g; manganous carbonate, 0.02 g; ferric citrate, 0.21 g; zinc carbonate, 0.06 g; cupric carbonate, 0.01 g; potassium iodate, 0.00035 g; sodium selenite, 0.00036 g; chromium potassium sulfate, 0.01 g; ammonium paramolybdate, 0.0003 g; sodium meta-silicate, 0.05 g; lithium chloride, 0.0006 g; boric acid, 0.003 g; sodium fluoride, 0.002 g; nickel carbonate, 0.001 g; ammonium vanadate, 0.0002 g; sucrose finely powdered, 7.73 g.  
<sup>3)</sup>Vitamin mixture provides thiamin HCl, 0.006 g; riboflavin, 0.006 g; pyridoxine HCl, 0.007 g; nicotinic acid, 0.03 g; calcium pantothenate, 0.016 g; folic acid, 0.002 g; D-biotin, 0.0002 g; vitamin B<sub>12</sub>, 0.025 g; vitamin A palmitate, 0.008 g; DL-alpha tocopheryl, 0.15 g; vitamin D<sub>3</sub>, 0.002 g; vitamin K, 0.00075 g; sucrose finely ground, 9.75 g.

phase C<sub>18</sub>(4 μm 3.9×300 mm, Nova-Pak, Waters, USA)을 사용하였으며 mobile phase(water 85 : acetonitrile 15)를 1.0 mL/min로 흘리면서 254 nm에서 daidzein과 genistein을 정량 분석하였다.

**변 중 daidzein과 genistein의 분석** : 변 중 daidzein과 genistein의 배설량은 소변에서와 같이 HPLC를 이용하여 분석하였다. 대변 시료 0.3 g을 냉동 건조시켜서 분말로 만든 다음 ethanol 5 mL을 넣고 잘 밀봉한 후 55°C shaking incubator에서 30분간 배양하여 이소플라본을 완전히 추출한 후 실온에서 냉각시켰다. 3000 rpm에서 15분간 원심분리시켜 상층액 1 mL을 취한 후 동일한 양의 4 mol/L HCl을 넣어 뚜껑을 닫은 후 100°C의 항온수조에서 30분간 담가 이소플라본의 conjugates를 가수분해시켰다. C<sub>18</sub> solid phase extraction cartridges(sep-pak plus, Waters, USA)에 methanol 2 mL과 3차 증류수 2 mL로 각각 condition을 시킨 후 가수분해시킨 시료를 loading하고 3차 증류수 2 mL로 세척한 후 80% methanol 2 mL을 흘려서 추출하여 이 중 10 μL를 HPLC에 주입하여 분석하였다.

**노와 변 중 daidzein과 genistein의 회수율 산출** : 이소플라본의 노 및 변 중 회수율(recovery)은 24시간 수집한 노 및 변을 통한 이소플라본의 배설량을 이소플라본의 섭취량으로 나누어서 산출하였으며 그 식은 다음과 같다.

$$\text{회수율(recovery, \%)} = \frac{\text{배설량}}{\text{섭취량}} \times 100$$

#### 통계분석

실험결과는 실험군별 평균과 표준오차로 나타내었고, ANOVA로 분석한 후 각 실험군 간의 비교는 Duncan's multiple range test에 의해 p<0.05 수준에서 검정하였다. 난소절제 여부에 따른 실험군 간의 비교는 Student t-test로 검정하였다.

### 결과 및 고찰

#### 식이 섭취량과 체중 증가량

실험동물의 6주간 식이 섭취량, 체중 증가량 및 식이효율

은 Table 2에 제시하였다. 식이 섭취량은 식이 내 이소플라본의 첨가량이 많을수록 실험군 간에 유의성은 나타나지 않았으며, 난소절제에 따른 유의적인 차이도 없었다.

체중 증가량을 보면 수술 후 처음 체중은 각 실험군 간에 차이가 없었으나 실험 마지막 주에 이르러 sham 수술의 경우 식이 내 이소플라본의 첨가량이 많을수록 최종 체중이 감소하는 경향을 보였고 대조군에 비하여 HI군이 유의적으로 체중이 낮았으며, 난소절제시 실험군 간의 유의적인 차이는 없었다. 실험 6주간의 체중 증가량은 sham 수술의 경우 식이 내 이소플라본의 첨가량이 많을수록 감소하는 경향을 보였으며 MI와 HI군에서 대조군에 비해 유의적으로 적었으며 난소절제시 실험군간 차이가 없었다. Fig. 1에서 sham 수술에 비해 난소절제에서 체중 증가량은 높은 경향을 보였으며 MI군에서 난소절제가 sham 수술보다 유의적으로 더 높았다. 이러한 본 연구 결과는 폐경기 이후 여성에서 체중이 증가한다는 Chung 등(33)과 Kalu 등(34)의 연구에서 sham 수술과 난소절제시 식이 섭취량이 비슷하였음에도 불구하고 체중의 증가는 난소절제의 경우가 더 높은 것으로 나타나 본 실험의 체중 증가량과 같은 경향을 보였다.

식이효율은 sham 수술의 경우 식이 내 이소플라본의 첨가량이 많을수록 감소하였는데 MI와 HI군에서 대조군에 비해 유의적으로 적었으며 난소절제시에는 실험군간 차이가 없었다. Fig. 1에서 보면 난소절제시 식이효율은 sham 수술에 비해 높은 경향을 보였으며 MI군에서 난소절제시 sham 수술보다 유의적으로 높음으로 체중 증가량과 같은 경향을 보였다.

#### 변 중 이소플라본의 배설

**Daidzein 배설량과 회수율** : 변 중 daidzein의 배설량은 Table 3에서 제시하였다. 식이 내 이소플라본의 첨가량이 많을수록 변 중 daidzein의 배설량은 sham 수술과 난소절제 모두 LI와 MI군에 비해 HI군이 유의적으로 많았다. 난소절제시 LI군에서는 변 중 daidzein의 배설은 볼 수 없었다. 변 중 daidzein의 회수율은 sham 수술의 경우 실험군간 유의성은 없었으나 난소절제시 HI군이 2.8%로 LI군의 1.1%에 비

Table 2. Total food intake, body weight gain and food efficiency ratio (FER) in sham-operated and ovariectomized rats

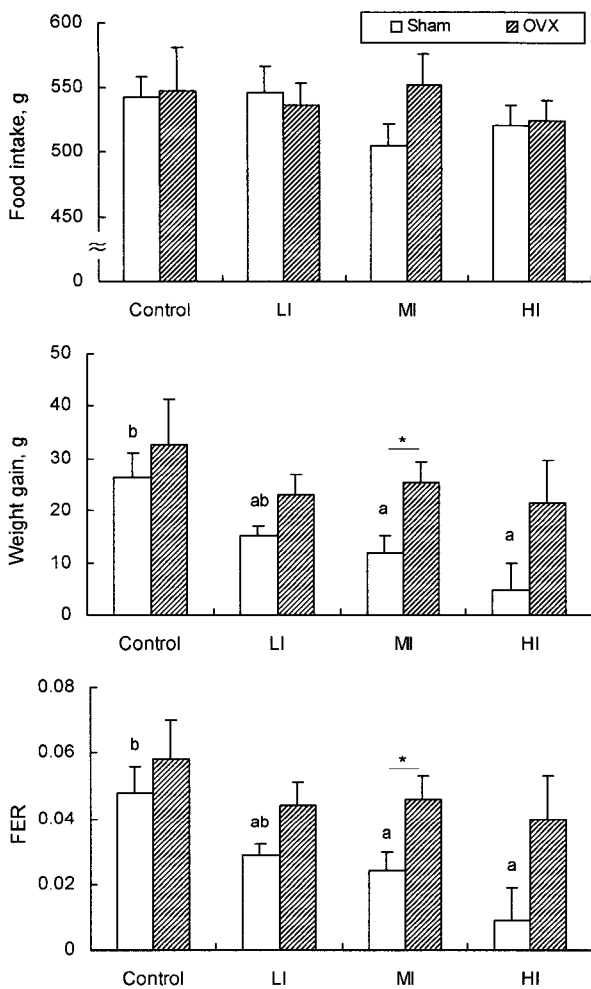
Operation	Group <sup>1)</sup>	Food intake (g)	Final body weight (g)	Body weight gain (g)	FER
Sham	Control	542±16 <sup>2)</sup>	315±7 <sup>3)</sup>	26.4±4.6 <sup>b</sup>	0.048±0.01 <sup>b</sup>
	LI	546±20	303±6 <sup>ab</sup>	15.4±1.8 <sup>ab</sup>	0.029±0.00 <sup>ab</sup>
	MI	505±17	300±8 <sup>ab</sup>	12.0±3.2 <sup>a</sup>	0.024±0.01 <sup>a</sup>
	HI	520±17	293±6 <sup>a</sup>	4.8±5.1 <sup>a</sup>	0.009±0.01 <sup>a</sup>
OVX <sup>4)</sup>	Control	547±33	305±12	32.7±8.5	0.058±0.01
	LI	536±17	295±5	23.2±3.6	0.044±0.01
	MI	552±24	298±7	25.3±3.9	0.046±0.01
	HI	524±16	294±8	21.7±7.8	0.040±0.01

<sup>1)</sup>LI: low isoflavone intake, MI: medium isoflavone intake, HI: high isoflavone intake.

<sup>2)</sup>Values are means±SEM (n=9).

<sup>3)</sup>Values in a column with different superscripts in the same operation are significantly different (p<0.05) as assessed by Duncan's multiple range test.

<sup>4)</sup>Ovariectomy.



**Fig. 1. Total food intake, body weight gain and food efficiency ratio (FER) in sham-operated and ovariectomized rats.** Bars represent means  $\pm$  SEM (n=9). Values with different alpha-bets in the same operation are significantly different ( $p < 0.05$ ) as assessed by Duncan's multiple range test. \* $p < 0.05$ , differ significantly between sham-operated and ovariectomized rats by t-test. LI: low isoflavone intake, MI: medium isoflavone intake, HI: high isoflavone intake. OVX: ovariectomy.

해 유의적으로 증가되었다. Fig. 2의 경우 난소절제에 따른 차이를 보면 변 중 daidzein의 회수율은 LI군에서만 난소절제의 경우가 sham 수술에 비해 유의적으로 낮았으며 MI와 HI군에서 유의적인 차이는 없었다. 따라서 이소플라본의 섭취량이 많을수록 난소를 절제한 경우 변 중 daidzein 배설량은 증가되며 변 중 회수율은 sham 수술에 비해 유의적 차이가 없었으며 LI군에서만 난소절제시 회수율이 유의적으로 더 낮았다.

**Genistein 배설량과 회수율:** 변 중 genistein의 배설량은 Table 4에서 제시하였다. Sham의 경우 식이 내 이소플라본의 첨가량이 많을수록 변 중 genistein의 배설량은 LI와 MI군에 비해 HI군에서 유의적으로 증가되므로 daidzein의 배설량과 같은 경향을 보였다. 난소절제에서는 HI군이 LI군보다 유의적으로 증가되었다. Fig. 3에서 보면 HI군에서 난소절제시 sham 수술보다 변 중 genistein의 배설량이 유의적으로 낮았다.

변 중 genistein의 회수율은 이소플라본의 첨가량이 많을수록 sham 수술에서는 MI군에 비해 HI군이 유의적으로 높았으며 난소절제는 HI군이 0.95%로 LI군 2.01%에 비해 유의적으로 낮았다. 난소절제에 따른 차이를 보면 LI, MI, HI군 모두 난소절제가 sham 수술에 비해 변 중 genistein의 회수율이 유의적인 차이를 보이지 않았다. 따라서 식이 내 이소플라본의 섭취량이 증가하면 난소절제와 sham 수술 모두 변을 통한 daidzein과 genistein의 배설량은 증가하였지만 난소절제시 sham 수술에 비해 변 중 daidzein 배설량은 LI군에서 낮았으며, 변 중 genistein의 배설량 또한 HI군에서는 낮았다. 그리고 변 중 genistein의 회수율은 난소절제시 이소플라본의 첨가량이 가장 높은 HI군에서 MI군에 비해 유의적으로 낮음으로 식이 내 이소플라본의 첨가량이 많을수록 난소절제시 장에서 genistein의 흡수율은 높아질 수 있으리라 본다.

이소플라본의 식이첨가량이 많을수록 변 중 daidzein과 genistein의 배설량은 증가되었으므로 한국인의 일상적 이소플라본 섭취량에서 10배 정도까지의 섭취수준에서는 섭

**Table 3. Dietary intake and fecal and urinary excretion of daidzein in sham-operated and ovariectomized rats**

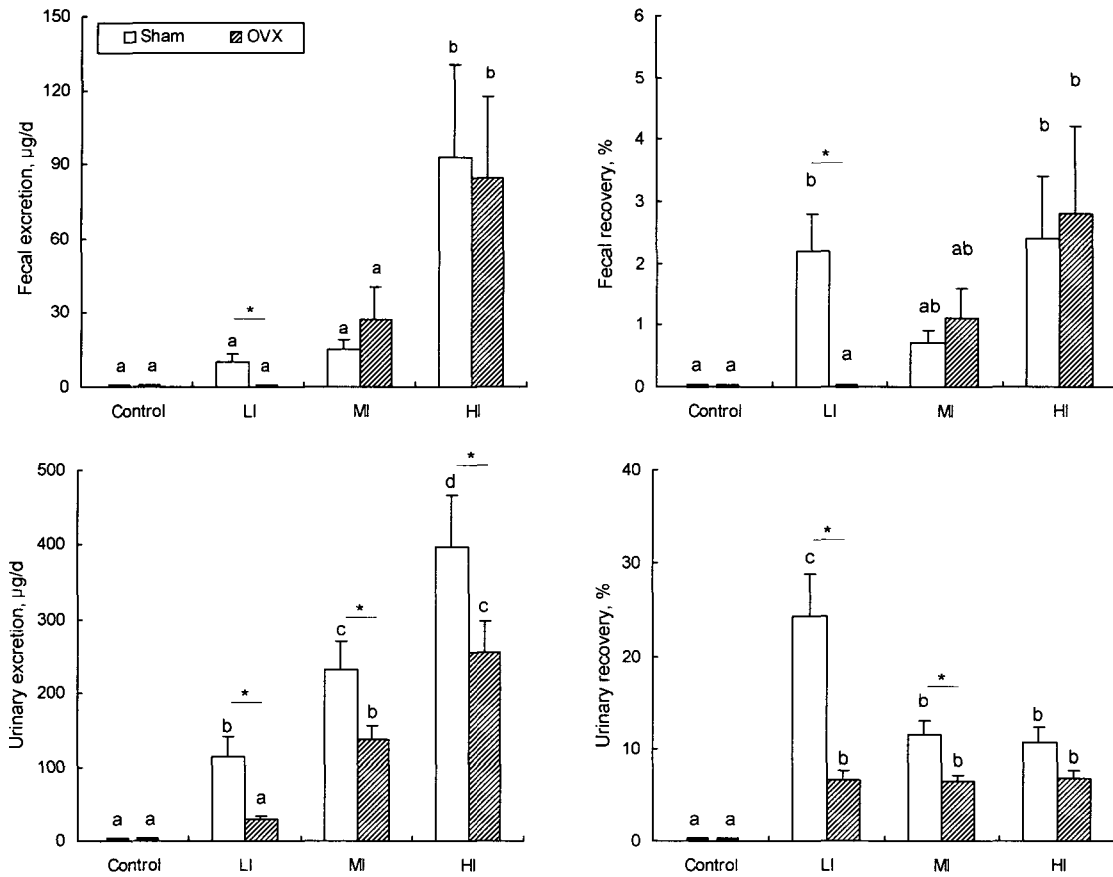
Operation	Group <sup>1)</sup>	Dietary intake ( $\mu\text{g}/\text{d}$ )	Fecal excretion ( $\mu\text{g}/\text{d}$ )	Recovery in feces (%)	Urinary excretion ( $\mu\text{g}/\text{d}$ )	Recovery in urine (%)
Sham	Control	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
	LI	446 $\pm$ 25 <sup>2)3)</sup>	10 $\pm$ 3 <sup>a</sup>	2.2 $\pm$ 0.6 <sup>b</sup>	115 $\pm$ 26 <sup>b</sup>	24.3 $\pm$ 4.5 <sup>c</sup>
	MI	1984 $\pm$ 172 <sup>c</sup>	15 $\pm$ 4 <sup>a</sup>	0.7 $\pm$ 0.2 <sup>ab</sup>	232 $\pm$ 37 <sup>c</sup>	11.5 $\pm$ 1.5 <sup>b</sup>
	HI	3690 $\pm$ 227 <sup>d</sup>	93 $\pm$ 38 <sup>b</sup>	2.4 $\pm$ 0.9 <sup>b</sup>	397 $\pm$ 69 <sup>d</sup>	10.7 $\pm$ 1.6 <sup>b</sup>
OVX <sup>4)</sup>	Control	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
	LI	435 $\pm$ 21 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	29 $\pm$ 5 <sup>a</sup>	6.6 $\pm$ 0.9 <sup>b</sup>
	MI	2144 $\pm$ 111 <sup>b</sup>	27 $\pm$ 13 <sup>a</sup>	1.1 $\pm$ 0.5 <sup>ab</sup>	138 $\pm$ 19 <sup>b</sup>	6.3 $\pm$ 0.7 <sup>b</sup>
	HI	3682 $\pm$ 287 <sup>c</sup>	85 $\pm$ 33 <sup>b</sup>	2.8 $\pm$ 1.4 <sup>b</sup>	256 $\pm$ 42 <sup>c</sup>	6.7 $\pm$ 0.9 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>LI: low isoflavone intake, MI: medium isoflavone intake, HI: high isoflavone intake.

<sup>2)</sup>Values are means  $\pm$  SEM (n=9).

<sup>3)</sup>Values in a column with different superscripts in the same operation are significantly different ( $p < 0.05$ ) as assessed by Duncan's multiple range test.

<sup>4)</sup>Ovariectomy.



**Fig. 2. Fecal and urinary excretion and recovery of daidzein in sham-operated and ovariectomized rats.** Bars represent means  $\pm$  SEM (n=9). Values with different alphabets in the same operation are significantly different ( $p < 0.05$ ) as assessed by Duncan's multiple range test. \* $p < 0.05$ , differ significantly between sham-operated and ovariectomized rats by t-test. LI: low isoflavone intake, MI: medium isoflavone intake, HI: high isoflavone intake. OVX: ovariectomy.

**Table 4. Dietary intake and fecal and urinary excretion of genistein in sham-operated and ovariectomized rats**

Operation	Group <sup>1)</sup>	Dietary intake (µg/d)	Fecal excretion (µg/d)	Recovery in feces (%)	Urinary excretion (µg/d)	Recovery in urine (%)
Sham	Control	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
	LI <sup>2)</sup>	86.7 $\pm$ 4.9 <sup>2b3)</sup>	1.0 $\pm$ 0.2 <sup>ab</sup>	1.2 $\pm$ 0.3 <sup>bc</sup>	20.3 $\pm$ 5.1 <sup>b</sup>	22.0 $\pm$ 4.5 <sup>c</sup>
	MI	385.9 $\pm$ 33.5 <sup>c</sup>	3.6 $\pm$ 0.8 <sup>b</sup>	0.9 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>	34.3 $\pm$ 5.6 <sup>b</sup>	8.8 $\pm$ 1.2 <sup>b</sup>
	HI	717.7 $\pm$ 44.1 <sup>d</sup>	11.7 $\pm$ 1.8 <sup>c</sup>	1.6 $\pm$ 0.2 <sup>c</sup>	56.9 $\pm$ 10.1 <sup>c</sup>	7.9 $\pm$ 1.2 <sup>b</sup>
OVX <sup>4)</sup>	Control	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>
	LI	84.7 $\pm$ 4.1 <sup>a</sup>	1.7 $\pm$ 0.4 <sup>ab</sup>	2.1 $\pm$ 0.4 <sup>c</sup>	4.7 $\pm$ 0.7 <sup>a</sup>	5.5 $\pm$ 0.7 <sup>b</sup>
	MI	417.1 $\pm$ 21.6 <sup>b</sup>	4.3 $\pm$ 1.1 <sup>bc</sup>	1.1 $\pm$ 0.3 <sup>bc</sup>	24.2 $\pm$ 4.4 <sup>b</sup>	5.7 $\pm$ 0.9 <sup>b</sup>
	HI	716.3 $\pm$ 55.8 <sup>c</sup>	5.4 $\pm$ 1.6 <sup>c</sup>	0.9 $\pm$ 0.4 <sup>ab</sup>	52.1 $\pm$ 9.9 <sup>c</sup>	7.1 $\pm$ 1.2 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>LI: low isoflavone intake, MI: medium isoflavone intake, HI: high isoflavone intake.

<sup>2)</sup>Values are means  $\pm$  SEM (n=9).

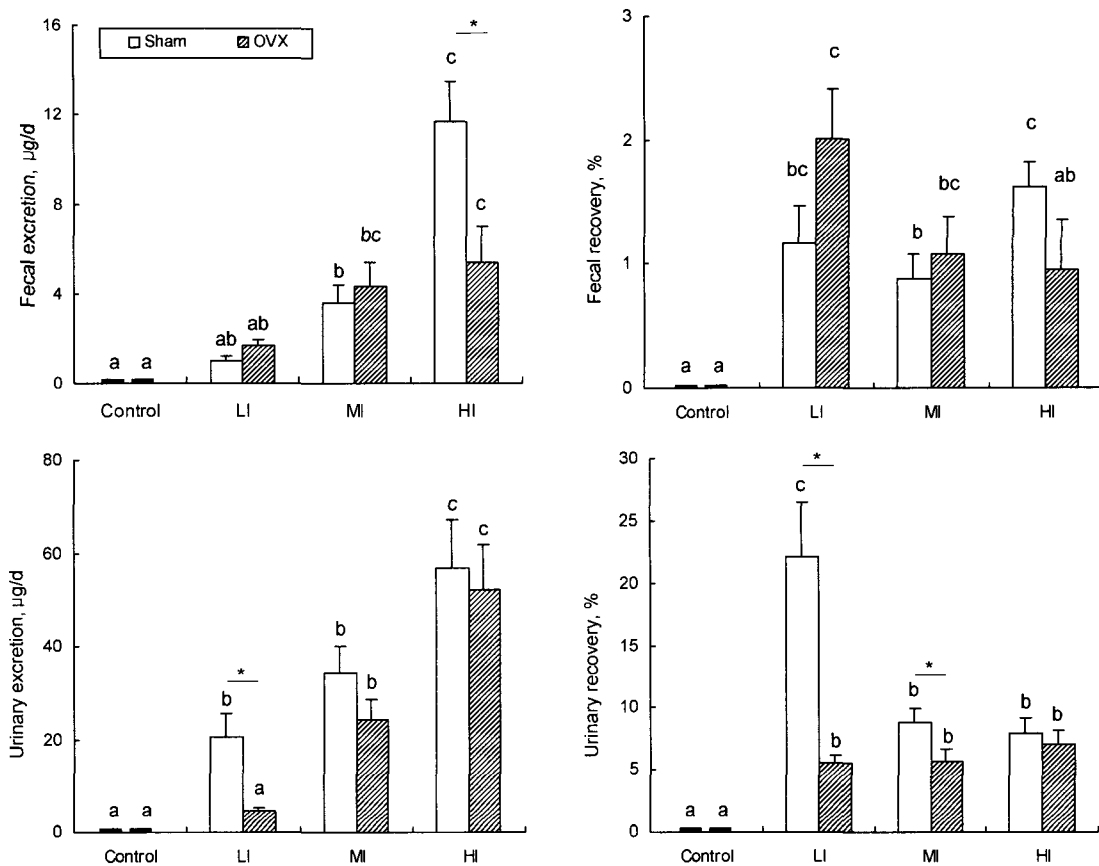
<sup>3)</sup>Values in a column with different superscripts in the same operation are significantly different ( $p < 0.05$ ) as assessed by Duncan's multiple range test.

<sup>4)</sup>Ovariectomy.

취량에 의존하여 반응함을 알 수 있었다. 이소플라본의 섭취량이 많으면 흡수율이 감소하였으나 장에서 흡수되어 체내로 들어간 이소플라본의 절대량은 식이에 이소플라본의 첨가량이 많을수록 더 많은 양이 체내로 흡수되어 들어가서 이용성이 증가하였을 것으로 생각된다.

**노 중 이소플라본의 배설**

**Daidzein 배설량과 회수율:** 24시간 수집한 sham 수술과 난소절제한 암컷 흰쥐의 노 중 daidzein의 배설량을 Table 3에서 제시하였다. 식이 내 이소플라본의 첨가량이 많을수록 sham 수술과 난소절제 모두 노 중 daidzein의 배설량은 유의



**Fig. 3. Fecal and urinary excretion and recovery of genistein in sham-operated and ovariectomized rats.** Bars represent means  $\pm$  SEM (n=9). Values with different alphabets in the same operation are significantly different ( $p < 0.05$ ) as assessed by Duncan's multiple range test. \* $p < 0.05$ , differ significantly between sham-operated and ovariectomized rats by t-test. LI: low isoflavone intake, MI: medium isoflavone intake, HI: high isoflavone intake. OVX: ovariectomy.

적으로 증가되었다. Fig. 2에서 보면 daidzein의 뇨 중 배설량이 sham 수술에서 난소절제에 비해 동일한 양의 이소플라본 식이에서 즉 LI, MI, HI군 모두에서 유의적으로 더 높게 나타났다. 이는 여성에게 체중 kg당 이소플라본을 0.7 mg, 1.3 mg, 2.0 mg으로 함유된 두유를 제공하였을 때 뇨 중 daidzein의 배설량은 각각 4.5, 11.5, 14.2  $\mu\text{mol}$ 로 증가되었다는 보고(35)처럼 본 연구의 결과에서도 이소플라본의 섭취가 많을수록 뇨 중 daidzein의 배설량은 증가되는 유사한 경향을 볼 수 있었다.

뇨 중 daidzein의 회수율에서 sham 수술의 경우 LI군에 비해 MI와 HI군에서 유의적으로 감소되었지만 MI와 HI군에서는 유의적인 차이를 보이지 않았다. 난소절제의 경우 뇨 중 daidzein의 회수율은 LI, MI, HI군이 각각 6.64, 6.34, 6.70%로 실험군 간의 유의적인 차이는 없었다. Fig. 2에서 수술여부에 따른 뇨 중 회수율의 차이를 보면 난소절제가 sham 수술에 비해 LI와 MI군에서 뇨 중 회수율이 유의적으로 낮게 나타났다. 성인 여성에게 체중 kg당 3.4, 6.9, 10.3  $\mu\text{mol}$  이소플라본이 함유된 식이를 매일 제공한 연구(22)에서 보면, 변을 통한 이소플라본의 배설량이 적은 대상의 경우 48

시간 배설된 뇨 중 daidzein의 회수율은 각각 17.22, 15.21, 15.97%로 3.4  $\mu\text{mol}$ 의 이소플라본 섭취에서 뇨 중 daidzein의 회수율이 가장 높았다. 이와 같은 뇨 중 daidzein의 회수율은 본 연구 결과 sham 수술과 비슷한 경향을 보여 주었지만 난소절제보다는 매우 높은 범위였다.

뇨와 변을 통한 daidzein의 총 배설량은 섭취량이 많을수록 유의적으로 많았다. 섭취량에서 배설량을 뺀 체내에 잔류하는 것으로 생각되는 daidzein 함량은 체중 g당 sham 수술에서 LI군이 평균 1.06, MI군이 5.81, HI군이 10.94  $\mu\text{g/g}$ 이었으며 난소절제수술에서는 LI군이 1.35, MI군이 6.75, HI군이 11.16  $\mu\text{g/g}$ 로 식이 첨가수준인 5배와 10배와 비슷하였다.

**Genistein 배설량과 회수율 :** Sham 수술과 난소절제한 암컷 흰쥐의 뇨 중 genistein의 배설량을 Table 4에서 제시하였다. 식이 내 이소플라본의 첨가량이 많을수록 뇨 중 genistein의 배설량은 증가되었다. Sham 수술의 경우 LI와 MI군에 비하여 HI군에서 유의적으로 증가되었으며 LI와 MI군간의 유의적인 차이는 보이지 않았다. 난소절제의 경우 뇨 중 genistein의 배설량은 이소플라본의 첨가량이 많을수록 실험군간 유의적으로 증가되었으며 daidzein의 배설량과

같은 경향을 나타내었다. Fig. 3에서 보면 난소절제를 하였을 때 LI군에서 노 중 genistein의 배설량이 sham 수술에 비해 유의적으로 낮았으며 MI와 HI군에서는 유의적인 차이가 나타나지 않았다.

노와 번을 통한 genistein의 총 배설량은 섭취량이 많을수록 유의적으로 많았다. 섭취량에서 배설량을 뺀 체내에 잔류하는 것으로 생각되는 genistein 함량은 체중 g당 sham 수술에서 LI군이 평균 0.22, MI군이 1.16, HI군이 2.22  $\mu\text{g/g}$ 이었으며 난소절제수술에서는 LI군이 0.27, MI군이 1.31, HI군이 2.26  $\mu\text{g/g}$ 로 식이 첨가수준인 5배와 10배와 비슷하였다.

노 중 genistein의 회수율에서 보면 sham 수술의 경우 LI군에 비해 MI와 HI군에서 유의적으로 감소되었지만 MI와 HI군간에서는 유의적인 차이를 보이지 않았다. 난소절제의 경우에는 이소플라본의 첨가량에 따라 노 중 genistein의 회수율은 실험군간 5~7%로 유의적인 차이를 보이지 않았다. 노 중 회수율은 난소절제를 하였을 때 LI와 MI군에서 유의적으로 낮게 나타났으나 HI군에서는 sham 수술에 비해 유의적 차이를 보이지 않았다. 이것은 이소플라본의 장내 대사에서 개인간의 차이로 인한 것으로 볼 수 있다. 폐경 전 여성에게 매일 45 mg 이소플라본을 1개월간 공급하여 호르몬상태와 월경 주기를 조절하는데 미치는 영향을 살펴 본 연구(36)에서 보면 노 중 이소플라본의 총 배설량이 이소플라본을 보충섭취하지 않았을 때의 1.4~17.1  $\mu\text{g/d}$ 에서 대두 이소플라본을 섭취 후 0.35~7.49  $\text{mg/d}$ 로 매우 증가되었으며 노 중 회수율은 1.8~12.9%로 나타났다고 한다. 이와 같은 회수율은 본 연구의 결과와 유사한 범위였다. 이 연구에서 보면 이소플라본을 섭취한 후 월경주기가 지연되었는데 이소플라본이 에스트로겐의 길항작용을 한 것으로 짐작된다. 따라서 대두 섭취량이 많은 아시아 지역에서 유방암 발생률이 서구지역 보다 낮은 것으로 보인다.

위와 같이 본 연구 결과에서 보면, 노 중 daidzein과 genistein의 배설량의 경우에는 이소플라본의 식이 첨가량이 50 ppm, 250 ppm, 500 ppm으로 많을수록 배설량이 유의적으로 증가하였으나 회수율은 유의적으로 감소되었다. 흡수된 이소플라본이 체내에서 대사되어진 후에 노를 통하여 배설되어질 때 섭취량이 많으면 배설량도 증가하였지만 회수율은 유의적으로 감소하였는데 이러한 결과는 체내에서 많은 양이 이용되어지는 체내 이용성의 증가를 의미한다. 난소절제 여부에 따른 노 중 이소플라본의 배설량과 회수율을 보면 난소절제 수술시 sham 수술에 비해 노 중 daidzein과 genistein의 배설량이 유의적으로 적었으며 노 중 회수율도 유의적으로 낮았다. 즉 난소절제의 경우 식이에 이소플라본의 첨가량이 많을수록 노 중 daidzein과 genistein의 회수율이 낮았으므로 이소플라본의 생체 이용성이 증가되었다고 볼 수 있다. 그러므로 폐경이후의 여성이 폐경 전 여성에 비해 이소플라본을 섭취하였을 때 더 효과적으로 이용할 수 있으므로 에스트로겐 대체효과가 있을 것이다.

## 요 약

본 연구에서는 16주령 암컷 흰쥐를 대상으로 이소플라본의 함량이 다른 세 종류의 식이를 6주간 공급한 후 노와 번에서 daidzein과 genistein의 배설량을 측정하여 생체 이용성을 살펴보고 난소절제 여부에 따른 차이가 있는지도 알아보려고 하였다. 식이 내 이소플라본의 첨가량이 많을수록 번 중 daidzein 배설량은 유의적으로 증가하여 섭취량에 따른 반응의존성을 나타내었다. 그러나 난소절제여부에 따른 차이는 없었다. 번 중 genistein의 배설량도 이소플라본의 첨가량이 많을수록 유의적으로 증가하였으나, HI군에서 비교해보면 난소절제시 sham 수술보다 번 중 배설량이 유의적으로 낮았다. 번 중 회수율의 경우에는 배설량과 같은 섭취량에 비례적인 관계는 나타나지 않았으며 난소절제 여부에 따른 차이도 뚜렷하지 않았다. 노 중 daidzein의 배설량은 번 중 배설량과 마찬가지로 sham과 난소절제 모두에서 이소플라본의 첨가량이 많을수록 유의적으로 증가되었다. 난소절제 여부에 따른 노 중 이소플라본의 배설량을 보면 LI, MI, HI군에서 daidzein의 배설량은 sham에 비해 난소절제에서 유의적으로 낮았으며 genistein의 배설량도 LI군에서는 유의적으로 낮았다. 또한 노 중 회수율을 보면 sham에서 LI군에 비해 MI와 HI군에서 회수율이 유의적으로 낮았는데, 난소절제의 경우에는 이소플라본의 수준에 따른 회수율의 차이가 없었다. 그리고 회수율은 난소절제에서 sham에 비해 LI와 MI군에서 유의적으로 낮았다. 그러므로 이소플라본의 섭취수준이 증가하면 노와 번을 통한 이소플라본의 배설은 한국인의 일상적 섭취수준의 10배 범위에서는 섭취량에 의존적임을 알 수 있으며, 난소절제를 하였을 경우 노와 번을 통한 배설량을 감소시켜서 더 많이 체내에서 이용함을 알 수 있었다. 섭취량이 증가하면 sham 수술의 경우에는 노 중 회수율이 감소함에 비해 난소절제에서는 회수율이 동일하고 LI와 MI군에서는 유의적으로 sham에 비해 회수율이 낮으므로 난소절제모델에서는 이소플라본의 생체이용성이 매우 높음을 확인할 수 있었다. 이러한 점으로 미루어볼 때 난소호르몬의 분비가 없는 폐경 후 여성에게는 이소플라본의 섭취가 호르몬으로서의 효과가 뚜렷할 것으로 짐작되며 이소플라본의 보충섭취를 권장한다.

## 감사의 글

본 연구는 한국과학재단의 연구비지원(R04-2002-000-20095-0(2003))에 의해 수행된 연구결과로서 이에 감사드립니다.

## 문 헌

1. Anderson JJ, Anthony M, Cline J, Washburn SA, Garner SC. 1999. Health potential of soy isoflavones for menopau-



- sal women. *Public Health Nutr* 2: 489-504.
2. Choi JS, Kwon TW, Kim JS. 1996. Isoflavone contents in some varieties of soybean. *Foods Biotechnol* 5: 167-169.
  3. Masdarinec G, Singh S, Meng L, Franke AA. 1998. Dietary soy intake and urinary isoflavone excretion among women from a multi-ethnic population. *Cancer Epidemiol Markers & Prevention* 7: 613-619.
  4. Pereira MA, Barnes LH, Rassman VL, Kelloff GV, Steele VE. 1994. Use of azoxymethane-induced foci of aberrant crypts in rat colon to identify potential cancer chemopreventive agents. *Carcinogenesis* 15: 1049-1054.
  5. Setchell KDR, Borriell SP, Hulme P, Axelson M. 1984. Non-steroidal estrogens of dietary origin: Possible roles in hormone dependent disease. *Am J Clin Nutr* 40: 569-578.
  6. Tang BY, Adams NR. 1980. Effect of equol on estrogen receptors and on synthesis of DNA and protein in the immature rat uterus. *J Endocrinol* 85: 291-297.
  7. Setchell KDR, Cassidy A. 1999. Dietary isoflavones: Biological effects and relevance to human health. *J Nutr* 129: 758S-767S.
  8. Anthony MS, Clarkson TB, Hughes CL Jr, Morgan TM, Burke GL. 1996. Soybean isoflavones improve cardiovascular risk factors without affecting the reproductive system of peripubertal rhesus monkeys. *J Nutr* 126: 43-50.
  9. Kuiper GG, Lemmen JG, Carlsson B, Corton JC, Safe SH, van der Saag PT, van der Burg B, Gustafsson JA. 1998. Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor beta. *Endocrinol* 139: 4252-4263.
  10. Messina MJ, Loprinzi CL. 2001. Soy for breast cancer survivors: A critical review of the literature. *J Nutr* 131: 3095S-3108S.
  11. Potter SM, Baum JA, Teng H, Stillman RJ, Shay NF, Erdman JW. 1998. Soy protein and isoflavones: Their effects on blood lipids and bone density in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 68: 1375S-1379S.
  12. Alekel DL, Germain AS, Peterson CT, Hanson HB, Stewart JW, Toda T. 2000. Isoflavone-rich soy protein isolate attenuates bone loss in the lumbar spine of premenopausal women. *Am J Clin Nutr* 72: 844-852.
  13. Deyhim F, Stoecker BJ, Brusewitz GH, Arjmandi BH. 2003. The effects of estrogen depletion and isoflavones on bone metabolism in rats. *Nutr Res* 23: 123-130.
  14. Ishimi Y, Arai N, Wang X, Wu J, Uemefaki K, Miyaura C, Takeda A, Ikegami S. 2000. Difference in effective dosage of genistein on bone and uterus in ovariectomized mice. *Biochem Biophys Res Commun* 274: 697-701.
  15. Thomas BF, Zeisel SH, Busby MG, Hill JM, Mitchell RA, Scheffler NM, Brown SS, Bloeden LT, Dix KJ, Jeffcoat AR. 2001. Quantitative analysis of the principle soy isoflavones genistein, daidzein and glycitein and their primary conjugated metabolites in human plasma and urine using reversed-phase high performance liquid chromatography with ultraviolet detection. *J Chromatography B* 760: 191-205.
  16. Friend DR, Chang GW. 1984. A colon-specific drug-delivery system based on drug glycosides and the glycosides of colonic bacteria. *J Med Chem* 27: 261-266.
  17. Lampe JW, Martini MC, Kurzer MS, Adlercreutz H, Slavin JL. 1994. Urinary lignan and isoflavonoid excretion in premenopausal women consuming flaxseed powder. *Am J Clin Nutr* 60: 122-128.
  18. Adlercreutz H, Fotsis T, Bannwart C, Wahala K, Brunow G, Hase T. 1991. Isotope dilution gas chromatographic-mass spectrometric method for the determination of lignans and isoflavonoids in human urine including identification of genistein. *Clin Chim Acta* 199: 263-278.
  19. Joannou GE, Kelly GE, Reeder AY, Waring M, Nelson C. 1995. A urinary profile study of dietary phytoestrogens. The identification and mode of metabolism of new isoflavones. *J Steroid Biochem Mol Biol* 54: 167-184.
  20. Slavin JL, Karr SC, Hutchins AM, Lampe JW. 1998. Influence of soybean processing habitual diet and soy dose on urinary isoflavonoid excretion. *Am J Clin Nutr* 68: 1492S-1495S.
  21. Aldercreutz H, Honjo H, Hingashi A. 1991. Urinary excretion of ligands and isoflavonoid phytoestrogens in Japanese men and women consuming a traditional Japanese diet. *Am J Clin Nutr* 54: 1093-1100.
  22. Xu X, Harris KS, Wang HJ, Murphy PA, Hendrich S. 1995. Bioavailability of soybean isoflavones depends upon gut microflora in women. *J Nutr* 125: 2307-2315.
  23. Hutchins AM, Slavin JL, Lampe JW. 1995. Urinary isoflavonoid and lignan excretion after consumption of fermented and unfermented soy products. *J Am Diet Assoc* 95: 545-551.
  24. Wang H, Murphy PA. 1996. Mass balance study of isoflavones during soybean processing. *J Agric Food Chem* 44: 2377-2383.
  25. Nout MJR, Rombouts FM. 1990. Recent developments in tempeh research. *J Applied Bacteriol* 69: 609-633.
  26. Wang H, Murphy PA. 1994. Isoflavones content in commercial soybean foods. *J Agric Food Chem* 42: 1666-1673.
  27. Bloeden LT, Jeffcoat AR, Lopaczynski W, Schell MJ, Black TM, Dix KJ, Thomas BF, Albright C, Busby MG, Crowell JA, Zeisel SH. 2002. Safety and pharmacokinetics of purified soy isoflavones: Single-dose administration to postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 76: 1126-1137.
  28. Lee SK, Lee MJ, Yoon S, Kwon DJ. 2000. Estimated isoflavone intake from soy products in Korean middle-aged women. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 29: 948-956.
  29. Sung CJ, Choi SH, Kim MH, Park MH, Go BS, Kim HK. 2000. A study on dietary isoflavone intake from soy foods and urinary isoflavone excretion and menopausal symptoms in Korean women in rural areas. *Kor J Soc Commun Nutr* 5: 120-129.
  30. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC. 1993. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: Final report of the american institute of nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr* 123: 1939-1951.
  31. Kwon TW, Song YS, Kim JS, Moon GS, Kim JI, Hong JH. 1998. Current research on the bioactive functions of soyfoods in Korea. *Kor Soybean Digest* 15: 147-160.
  32. Record IR, Jannes M, Dreosti IE, King RA. 1995. Induction of micronucleus formation in mouse splenocytes by the soy isoflavone genistein *in vitro* but not *in vivo*. *Food Chem Toxicol* 33: 919-922.
  33. Chung LW, Gleave ME, Hsi JT, Hong SJ, Zhou HE. 1991. Reciprocal mesenchymal-epithelial interaction affecting prostate tumor growth and hormonal responsiveness. *Cancer Surv* 11: 91-121.
  34. Kalu DN, Lin CC, Salerno E, Hollis BW, Echon R, Ray M. 1991. Skeletal response of ovariectomized rats to low and high doses of 17 $\beta$ -estradiol. *Bone Miner* 14: 175-187.
  35. Xu X, Wang HJ, Murphy PA, Cook L, Hendrich S. 1994. Daidzein is a more bioavailable soy milk isoflavone than is genistein in adult women. *J Nutr* 124: 825-832.
  36. Cassidy A, Bingham S, Setchell KD. 1994. Biological effects of a diet of soy protein rich in isoflavones on the menstrual cycle of premenopausal women. *Am J Clin Nutr* 60: 333-340.