

## 콩 함유 이소플라본의 생리활성과 가공적성

한진숙<sup>1</sup> · 하태열<sup>2</sup> · 김성란<sup>2†</sup>

<sup>1</sup>동의과학대학 식품과학계열

<sup>2</sup>한국식품연구원 식품기능연구본부

### Studies on Physiological Properties of Isoflavone from Soybean and Its Processing Properties

Jin-Suk Han<sup>1</sup>, Tae Youl Ha<sup>2</sup> and Sung-Ran Kim<sup>3†</sup>

<sup>1</sup>Division of Food Science, Dong-Eui Institute of Technology, Busan 614-715, Korea

<sup>2</sup>Food Function Research Division, Korea Food Research Institute, Songnam 463-420, Korea

#### Abstract

The antioxidant activity, nitrite scavenging effect, and angiotensine I -converting enzyme inhibiting activity of solvent extracts of soybean isoflavone were investigated. Also anticarcinogenic activities of them were examined by MTT assay using human cancer cell line. Isoflavone aglycones showed relatively high antioxidant activity in order of glycinein, genistein, and daidzein. Methanol extract of soybean actively scavenged free radicals and was shown excellent nitrite scavenging effect. Glycinein and methanol extract of soybean inhibited the growth of human cancer cell such as stomach carcinoma (SNU-1) and colon carcinoma (SNU-C4) effectively. Genistein, daidzein and methanol extracts of soybean inhibited the growth of cancer cell such as stomach carcinoma (SNU-1), but had weak activities to colon carcinoma (SNU-C4). To apply the soybean isoflavone as an enhancer for food quality and processibility, the stabilities on heat and pH of isolated isoflavone, isoflavone in soybean flour and isoflavone concentrate of soybean were investigated. Stability of isoflavone concentrate of soybean was decreased in pH extreme (below 3, above 8) during sterilization, but isoflavone in soybean flour showed higher stability in all pH range. All kinds of isoflavone tested in this study were very stable during the heat treatment.

**Key words:** soybean, isoflavone, antioxidant activity, nitrite scavenging effect, anticarcinogenic activities

#### 서 론

콩은 양질의 단백질을 함유하고 있으며, 높은 불포화지방산 비율과 식이섬유소 등 영양학적으로 우수한 식량자원이다. 콩은 우수한 영양성분 외에도 그동안 항암성 인자로 알려졌던 물질들이 오히려 항암성 및 여러 생리적 기능이 있다는 점이 밝혀지면서 콩의 가치는 더욱 커지고 있다(1-4). 콩은 다양한 생리활성 물질의 자원으로 식이섬유, 올리고당, 이소플라본, 피틴산, 단백질 분해효소 억제제, 사포닌, 콩 단백질과 그 가수분해물, 식물성 스테롤과 폐놀 화합물 등이 보고되었다(5,6).

이소플라본은 heterocyclic phenols로 구조가 estradiol 같은 estrogen sterols과 유사한 구조의 폴리페놀로 식물에 의해 합성된다. 이소플라본 중 특히 genistein과 daidzein은 그들의 항암효과와 항산화 효과로 주목을 받아 왔으며 여러 가지 암뿐 아니라 각종 성인병의 예방과 치료 효과에도 기대가 크다(7-9). Genistein은 암세포의 증식에 관여하는 효소

의 작용을 저해하는 것으로 밝혀져 전립선암 억제 등 발암억제 가능성이 여러 측면에서 보고되었다(10,11). 또한 estrogen receptor와 약하게 결합하여 estrogen 활성을 필요로 하는 유방암 세포의 발생을 억제하다는 연구결과가 있다. 즉, genistein은 *in vivo* 뿐 아니라 *in vitro* 실험계에서 과산화물 생성의 저해제로서 또한 유리 레디칼의 소거제로서 효과적임이 밝혀졌다(12-15). 또한, genistein은 약한 estrogen 활성을 발휘하여 뼈세포의 증식을 촉진하여 뼈손실을 예방할 수 있으며, 나아가 폐경성 및 노인성 골다공증의 예방에 유용하다는 연구도 발표되었다(13,15).

최근에 콩은 생리활성 배당체인 이소플라본의 기능성으로 인하여 항암 및 항산화에 효과가 크다는 사실이 밝혀지고 있으므로 콩이 가진 우수한 생리 활성에 초점을 맞추고 기능성, 영양성 및 편의성이 높은 가공식품 생산기술의 개발, 특수영양식품의 개발 등 콩에 대한 다양한 각도의 연구가 요구되고 있다.

특히 이소플라본은 대두의 중요한 생리활성 성분으로 콩

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail: ran@kfra.re.kr

Phone: 82-31-780-9066, Fax: 82-31-780-9234

의 섭취 및 이용 형태 또한 가능한 한 이들 성분이 보존되도록 개선되어야 할 것이다. 그러나 아직 국내에서는 이소플라본의 생리활성 특성, 품종별 함량 분포, 콩 및 일부 콩 가공식품의 이소플라본 함량 분석 등 기초적인 연구가 진행되었을 뿐이다(16,17). 따라서 본 연구에서는 콩 식품의 품질 및 가공적성을 최적화하기 위해 콩 함유 이소플라본의 기능특성을 연구하였다.

## 재료 및 방법

### 실험 재료

경기도 수원 직물시험장과 경남 밀양의 영남시험장에서 2000년 수확한 황금콩을 분양받아 0°C에 보관하면서 실험에 사용하였다. 이소플라본 정량분석을 위한 표준물질로써 Sigma(St. Louis, MO, USA)사의 genistein, genistin 및 daidzein을 사용하였고 glycine과 기타 이소플라본 표준물질은 Fujicco사의 제품을 사용하였다. Chymotrypsin, N-benzoyl-L-tyrosine-p-nitroanilide 등의 protease 저해 활성 측정용 시약 등을 Sigma사의 것을 사용하였다. 면역학적 분석을 위한 rabbit anti-BBPI IgG는 본 연구실에서 제조한 것을, phosphate buffered saline(PBS), Tween 20, phosphate-citrate buffer(PCB), anti-rabbit IgG-HRP conjugate 등의 시약류는 Sigma(St. Louis, MO, USA)사의 것을, 기질로서 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine dihydrochloride(TMB)은 Pierce(Rockford, IL, USA)사의 것을 사용하였다.

### 이소플라본의 추출, 가수분해 및 함량 분석

Barnes 등(18)의 방법을 변형하여 마쇄한 대두시료 및 이소플라본 표준품에 각각 15 mL 1 N HCl을 가하고 heating block에서 60분간 가수분해하였다. 산 가수분해시킨 시료는 상온으로 냉각시킨 후 중류수, 80% 에탄올과 100% 메탄올을 첨가하여 50 mL로 정용하였다. 이를 교반시켜 이소플라본을 용출시켰으며 12시간 후 4°C에서 10,000 rpm으로 30분간 원심분리(SORVALL RC-6, SORVALL Co Ltd, Germany)하여 얻어진 상정액을 HPLC 분석시료로 사용하였다.

JASCO(Japan)사의 HPLC system을 이용하였으며 column은 ODS 계열의 YMC AM303(4.6×250 mm)을 사용하였다. 이동상은 0.1% acetic acid를 함유한 acetonitrile과 0.1% acetic acid를 함유한 water를 30:70 비로 혼합한 용매를 사용하였다. 유속은 1.0 mL/min로 조절하였고 injection volume은 20 μL였으며 UV detector의 파장은 254 nm, 감도는 0.32로 분석하였다.

이소플라본 표준물질을 methanol에 용해시켜 0.1~25 μg/mL 범위의 표준용액을 조제하여 HPLC 분석을 실시하고 peak area로부터 검량선을 작성하였다.

### DPPH에 대한 전자공여 작용

전자공여작용(electron donating ability)은 Williams 등(19)의 방법에 따라 각 추출물의 DPPH( $\alpha,\alpha$ -diphenyl- $\beta$ -picrylyhydrazyl)에 대한 전자공여효과로 나타나는 시료의 환원력으로 측정하였다. 추출물 1 mL에  $2 \times 10^{-4}$  M DPPH 용액(메탄올에 용해) 2 mL를 가한 후 vortex mixer로 10초간 혼합하고 추출물의 농도별 시간에 따른 전자공여작용을 분광광도계를 이용하여 525 nm에서 DPPH의 환원반응이 더 이상 일어나지 않는 steady state 상태에 이르는 시간을 측정하여 적정 반응시간으로 설정하였다. 적정 반응시간 설정 후 각 추출물 1 mL에  $2 \times 10^{-4}$  M DPPH 용액 2 mL를 가한 후 vortex mixer로 10초간 혼합하고 적정 반응시간 동안 반응시키면서 525 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 반응종료 후 각 시료의 농도에 따른 DPPH의 잔존률로부터 초기 DPPH 농도가 50% 감소될 때까지 필요한 항산화물질의 농도 EC<sub>50</sub>(efficient concentration)를 계산하고 antiradical activity로 나타내었다.

### 아질산염 소거작용

Kato 등(20)의 방법에 따라 측정하였다. NaNO<sub>2</sub>용액 2 mL에 시료를 일정농도로 녹인 용액 1 mL를 가하고 pH를 1.2로 조정하였으며 반응용액의 부피를 10 mL로 하였다. 이 액을 37°C에서 1시간 동안 반응시킨 후 각 반응액을 1 mL씩 취하여 2% 초산용액 5 mL, Griss시약(30% 초산으로 각각 조제한 1% sulfanilic acid와 1% naphthylamine을 1:1비율로 혼합한 것, 사용직전 조제) 0.4 mL을 첨가하고 잘 혼합한 다음 실온에서 15분간 방치 후 분광광도계를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하고 잔존하는 아질산량을 산출하였다. 대조구는 Griss 시약 대신 중류수를 0.4 mL 가하여 상기와 같은 방법으로 실시하였으며 아질산염 소거작용은 추출액을 첨가한 경우와 첨가하지 않은 경우의 아질산염 백분율(%)로 나타내었다. 이때 값이 큰 것일수록 추출액의 아질산염 분해작용이 크다는 것을 의미한다.

$$N(\%) = (1 - \frac{A - C}{B}) \times 100$$

N: 아질산염 소거율

A: 1 mM NaNO<sub>2</sub> 용액에 시료를 첨가하여 1시간 방치시킨 후 흡광도

B: 1 mM NaNO<sub>2</sub> 용액의 흡광도

C: 시료자체의 흡광도

### ACE(angiotensin converting enzyme) 저해작용

시료 50 μL에 ACE 조효소액 50 μL, 10 mM sodium borate buffer(pH 8.3) 100 μL를 가한 후 37°C에서 5분간 반응시켰다. 이 반응액에 기질인 HHL(hippuril-histidyl-leucine)용액(27 mg/2.5 mL sodium borate buffer) 50 μL를 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후 1 N HCl 250 μL를 가하여

반응을 종료시켰다. 여기에 ethyl acetate 1.5 mL를 가하여 15분간 진탕후 3,000 rpm에서 5분간 원심분리하고 상등액 1 mL를 취하였다. 이 상등액을 temp-block heater로 전조시킨 후 중류수 3 mL를 가하여 용해시키고 228 nm에서 흡광도를 측정하였으며 다음 식에 의하여 ACE 저해율을 산출하였다.

$$\text{ACE 저해율} (\%) = (1 - \text{Abs}_{\text{sample}} / \text{Abs}_{\text{reference}}) \times 100$$

#### 항종양 활성 측정

실험에 사용된 세포주들은 한국인 유래 암세포주로 성장속도가 빠르면서 항암제 감수성이 예민한 SNU-1(위암세포주)와 성장속도는 빠르지만 일부의 항암제에 내성을 갖는 SNU-C4(대장암세포주)를 서울대학교 암연구센터에서 분양받아 실험에 사용하였다.

추출물이 암세포주에 나타내는 세포독성을 항암효과의 지표로 삼고 MTT검색법(21)으로 실시하였으며 실험방법은 다음과 같다. 적정 세포수는 약물처리하지 않은 대조군에서 세포접종 당시와 4일 후 MTT 실험종료시에 모두 세포가지수, 핵수적으로 활발히 증식하면서 MTT처리후의 OD<sub>540</sub>값이 0.6~0.7에 이를 수 있는 세포수로 정하였다. 적정수의 세포를 180 μL의 배지에 부유시켜 96 well plate의 12개 칼럼 중 10개의 칼럼에 접종하였다. 추출물 시료는 PBS(phosphate buffered saline)에 용해시킨 후 20 μL씩 각 well에 가해 시료의 최종농도는 well당 각각 300, 30, 2 μg/mL씩 되도록 하였다. 한 가지 농도에 대해서는 1 column(8 well)을 동일한 조건으로 사용하며 나머지 한 column에는 약물 대신 PBS만을 20 μL첨가하여 100% 생존군(control survival)으로 하였다. 흡광도 측정시 사용할 blank에는 세포 없는 배지만을 180 μL 가하고 PBS 또는 약물을 20 μL 첨가하였다. 암세포와 약물이 접종된 plate를 37°C, 5% CO<sub>2</sub>하에서 4일간 배양한 후 0.1 mg의 MTT(3-[4,5-dimethyl thiazole-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide, Sigma)를 모든 well에 가해주고 다시 37°C에서 4시간 더 배양하였으며 배양 종료시 plate를 450×g에서 5분간 원심분리한 후 배지를 30 μL 정도만 남기고 제거하였다. 배지가 제거된 각 well에 DMSO(dimethyl sulfoxide)를 150 μL씩 가한 후에 formazan 결정이 녹을 때까지 약 10분간 가볍게 진탕해 주고 microplate reader(scanning mutiwell spectrophotometer)로 540 nm에

서 흡광도를 측정하였다. 이로부터 대조군과 비교한 시험군의 세포 생존율을 구하고 생존율이 50%가 되도록 하는 약물의 농도로부터 50% 억제농도(IC<sub>50</sub>, inhibitory concentration)를 구하였다.

#### 결과 및 고찰

##### 전자공여 작용

대두의 용매별 추출물을 제조하고 이들의 free radical 소거능, 아질산염 소거능, angiotensin 변환효소(ACE) 저해작용을 통한 생리활성 특성을 비교하였으며 결과는 Table 1과 같다. 추출수율은 100°C에서 열수추출물이 80°C에서 환류추출한 에탄올과 메탄올 추출물보다 높았으나 이소플라본 함량을 고려한 이소플라본 추출수율은 80% 에탄올 추출물이 가장 높았다.

대두의 용매별 추출물과 이소플라본을 radical DPPH( $\alpha,\alpha$ -diphenyl- $\beta$ -picrylhydrazyl)와 반응시키고 반응 종료 후의 DPPH 잔존률로부터 구한 유효농도(EC<sub>50</sub>)는 열수추출물(4,198.5 μg/mL), 80% 에탄올 추출물(598.1 μg/mL), 100% 메탄올추출물(395.1 μg/mL)의 순으로 높아 메탄올 추출물의 free radical 소거효과가 가장 우수하였다. 용매 추출물과 이소플라본 표준품의 농도에 따른 DPPH의 반응 후 잔존률에 대한 그래프는 Fig. 1에서 볼 수 있는 것과 같다. 대두의 용매별 추출물과 이소플라본 표준품의 radical DPPH와의 반응 기작은 거의 유사하였으며, 반응은 매우 느리게 점진적으로 진행되어 300분 이상이 되어야 반응이 종료되었다. 각 시료의 이소플라본 농도에 따른 DPPH 잔존률을 비교해 보면 메탄올 추출물의 EC<sub>50</sub>은 이소플라본 표준품의 경우보다 더 낮았다. 이는 Williams 등(19)이 20가지 화합물의 DPPH에 대한 kinetic behavior를 조사하여 분류한 유형 중 1~6시간에 걸쳐 steady state에 이르는 “slow kinetic type”에 해당하는 것으로 분류된다.

##### 아질산염 소거작용

아질산염은 발색제 및 풍미안정제, 세균의 생육억제제로서 가공식품에 첨가되며 그 자체가 독성을 가짐은 물론 식품 내 아민류와 반응하여 발암성 니트로사민을 생성하게 되고 식품뿐만 아니라 인체나 동물의 위내에서도 생성된다고 알

Table 1. Yields and physiological properties of soybean isoflavone extracted with various solvents

	80% Ethanol extract	100% Methanol extract	Hot water extract
Isoflavone (mg/g)	5.5	8.2	0.9
Extraction yields (%)	23.2	12.7	92.4
Isoflavone yields (%)	65.4	53.0	42.7
Antiradical activities of potent antioxidants by DPPH (EC <sub>50</sub> , μg/mL)	598.1	395.1	4198.5
Nitrite scavenging (%)	61.1	95.1	24.7
ACE inhibition (%)	6.8	14.6	26.6

All values are expressed as mean of triplicate determinations.

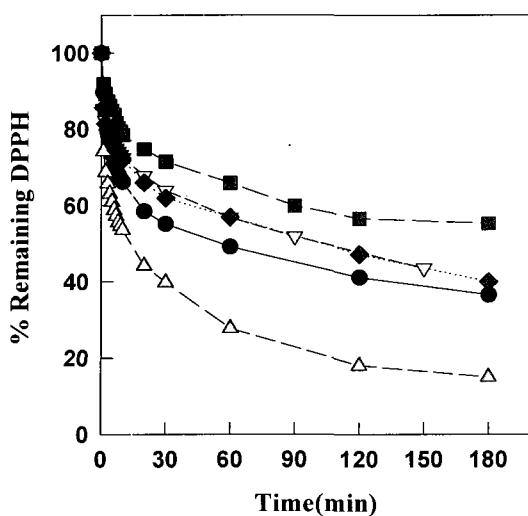


Fig. 1. DPPH radical scavenging effect of isoflavone and solvent extracts from soybean.

●: genistein (1,000 µg/mL), ■: daidzein (1,000 µg/mL), ▲: 100% ethanol extract at 80°C (1,740 µg/mL), ▼: 80% methanol extract at 80°C (634 µg/mL), ◆: hot water extract (6,290 µg/mL).

려지고 있다. 아질산염 소거작용을 용매별 대두추출물을 대상으로 pH에 따라 실험하였으며 결과는 Fig. 2와 같다. 각 용매별 추출물의 아질산염 분해작용은 반응용액의 pH가 낮을수록 높게 나타나 각 시료 모두 pH 1.2에서 가장 높게 나타났으며 pH가 높아질수록 아질산염소거능이 현저하게 떨어졌다. 이는 발암성 물질이 산성 조건에서 특히 인체나 동물의 위내의 pH 조건에서 용이하게 생성되는 것으로 알려져 있는데 생체내 특히 위내에서 니트로사민의 생성억제에 크게 기여하리라 생각된다.

용매별 추출물에 따른 아질산염 소거능은 메탄올 추출물, 에탄올 추출물, 열수추출물의 순으로 나타났다. 메탄올 추출물의 아질산염 소거능은 pH 1.2에서는 95%이상의 효과로

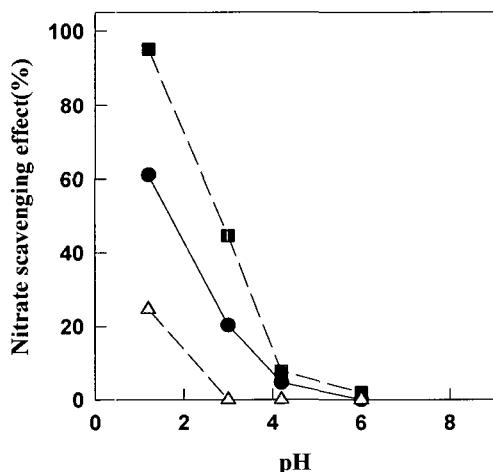


Fig. 2. Effect of pH on the activity of nitrite-scavenging of various solvent extracts from soybean.

●: 100% ethanol extract at 80°C, ■: 80% methanol extract at 80°C, ▲: hot water extract.

우수한 분해능을 나타내었으며 추출물의 농도가 증가할수록 아질산염 소거능이 높았다.

#### Angiotensin 변환 효소(ACE) 저해작용

대두의 용매별 추출물의 ACE저해작용은 Table 1과 같다. ACE(angiotensin I-converting enzyme)는 불활성 상태의 angiotensin I 으로부터 혈관수축으로 강한 혈압상승작용을 가지는 angiotensin II를 생성하며, 더불어 강한 혈관확장작용을 갖는 bradykinin을 분해함으로서 혈압상승작용을 하는 효소로서 이 효소의 저해능 결과는 Table 1과 같다. 대두의 용매 추출물은 추출용매와 상관없이 ACE 저해작용을 나타내었으며 특히 열수 추출물에서 가장 높게 나타났다. 용매 추출물별 이소플라본 함량을 고려해 볼 때 이소플라본이 가장 많이 추출된 메탄올 추출물보다 열수 추출물에서 더 큰 효과를 보였으므로 이는 ACE 저해작용은 이소플라본이외 대두에 존재하는 다른 기능성 물질, 즉 Son(22)에 의해 보고된 것처럼 대두 펩타이드에 의한 효과로 추정된다.

#### 대두 추출 이소플라본의 항산화 및 항암활성

일반적으로 식품에 사용되고 있고 항산화 효과가 입증된 항산화제( $\delta$ -tocopherol, gallic acid, ascorbic acid, ferulic acid, BHT)와 aglycone 형태의 이소플라본의 항산화능을 비교한 결과는 Fig. 3과 같다. 대두의 용매별 추출물의 항산

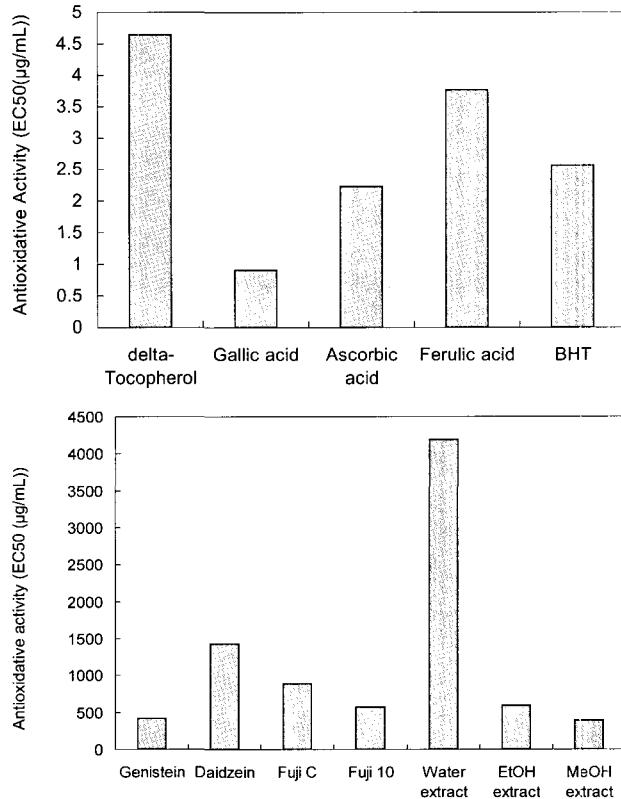


Fig. 3. Comparison of antioxidant activities of isoflavones, various solvent extracts from soybean, and various commercial antioxidants.

화능을 살펴보면 열수추출물의 항산화성이 가장 낮았으며 메탄올 추출물이 가장 우수하였다. 또한 에탄올과 메탄올 대두 추출물의 유효농도( $EQ_{50}$ )는 비타민 C와 BHT보다 낮았으며 실험한 항산화물질 중 genistein의  $EQ_{50}$ 가 가장 낮았는데 메탄올 대두 추출물의 항산화도 genistein과 거의 유사한 유효농도를 가지는 것으로 나타났다.

이소플라본과 국외의 시판 이소플라본 제제(Fuji C, Fuji 10)의 항산화효과도 Fig. 3과 같다. 기존의 항산화제에 비하여 유효농도가 높고 반응시간이 긴 단점이 있으나 식품 유래의 천연소재이고 복합적인 생리기능성을 부여하면서 항산화효과도 발휘할 수 있는 유용성이 가치가 크다고 하겠다.

이소플라본의 항종양활성을 대한 국외 연구 보고는 많으나 한국인에게 빈발하는 암세포를 대상으로 한 연구가 없으므로 이에 대한 활성시험을 실시하였다. 서울대학교 암연구 센터로부터 한국인에게 호발하는 cancer cell line인 위암세포(SNU-1)과 대장암세포(SNU-C4)를 분양받아 MTT법으로 항종양활성을 측정해 본 결과는 Table 2와 같다. Glycitein은 위암과 대장암에 모두 활성을 나타냈으며 메탄올 대두 추출물도 두 종류의 암세포에 모두 높은 활성을 보였다. 반면 daidzein과 genistein은 위암세포에 glycitein보다 상대적으로 미약한 활성을 보였고 대장암세포에는 거의 활성을 가지지 못하였다.

### 이소플라본의 가공적성

대두 이소플라본이 가공제품이나 특수영양식품으로 가공될 때 문제가 될 수 있는 여러 조건별 안정성을 검토하기 위하여, 분말상태의 대두에서 추출한 이소플라본 농축물(20~40%), 99% 이소플라본 표준품, 대두분말상태의 이소플라본을 대상으로 열과 pH 등의 살균조건에 따른 안정성을 실험하였다.

Fig. 4는 대두에서 추출한 이소플라본 농축물을 여러 pH에서 한 시간 열수 살균했을 때의 함량을 나타낸 것으로 pH 3 이하와 pH 8 이상의 극한 pH에서 함량이 크게 감소하였고 특히 알칼리조건에서 감소폭이 큰 것으로 나타났다. 각 pH 조건의 레토르트 처리구에서는 pH가 알칼리쪽으로 이동함에 따라 지속적으로 감소하다가 pH 9 이후에 급격하게 감소하는 것으로 나타났다. 따라서 대두에서 추출한 이소플라본 농축물은 열수처리보다 레토르트 가공하는 경우 pH의 영향

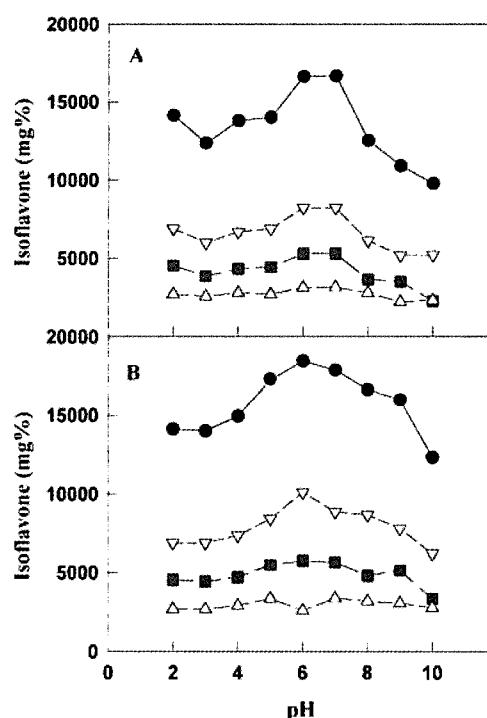


Fig. 4. Effect of pH and heating conditions on isoflavone content and composition of isoflavone concentrates from soybean.

A: heat treatment at 100°C for 1 hr, B: heat treatment at 121°C for 20 min.  
●: total isoflavone content, ▽: genistein content, ■: diadzein content, △: glycitein content.

도 덜 받아 이소플라본의 보존에 더 좋은 방법으로 나타났다.

대두분말상태의 이소플라본을 각각 열수 살균과 레토르트 살균한 경우 pH에 따른 이소플라본 함량의 변화는 Fig. 5와 같다. pH에 따른 이소플라본의 함량 감소가 거의 없이 일정량을 유지하는 것으로 나타났다. 이는 대두에서 추출한 것과는 달리 대두 상태 그대로 이소플라본이 존재하고 있어 대두에 존재하는 다른 성분이 이소플라본의 안정성에 관여하기 때문인 것으로 판단되었다.

분리 정제도를 더 높인 99% 이소플라본 표준품을 레토르트 살균하였을 때는 Fig. 6에서 보는 것과 같이 산성 조건에서는 거의 변화가 없으나 알칼리 조건에서는 함량 감소폭이 대두에서 추출한 이소플라본보다 두드러졌다. 그러나 일반 가공 주스류의 산도는 pH 3 이상이며 pH 3 이하와 pH 8 이상의 극한 pH에서 가공하게 되는 제품은 식품에서는 거의 없으므로 이소플라본의 pH 및 살균안정성은 큰 문제가 되지 않는 것으로 판단되었다.

한편 이소플라본의 열안정성을 시차주사열량계를 사용하여 조사하였다. 스텐레스 팬에 이소플라본 표준품을 넣고 수분 무첨가구와 3배의 수분 첨가구를 제조하였으며 완전 밀봉하고 질소기류하에서 분당 10°C의 속도로 가열한 결과 160°C까지의 가열에도 흡열이나 발열피크 등 상전이가 나타나지 않아 열분해에 안정함을 확인할 수 있었다(데이터 제시

Table 2. Anticancer activities of isoflavone and methanol extract from soybean on stomach and colon cancer cells

	Anticarcinogenicity ( $IC_{50}$ , $\mu\text{g/mL}$ )	
	SNU-1 <sup>1)</sup>	SNU-C4 <sup>2)</sup>
Genistein	251	300↑
Daidzein	271	300↑
Glycitein	116	246
Methanol extract of soybean	87	251

<sup>1)</sup>Human cell line of stomach cancer.

<sup>2)</sup>Human cell line of colon cancer.

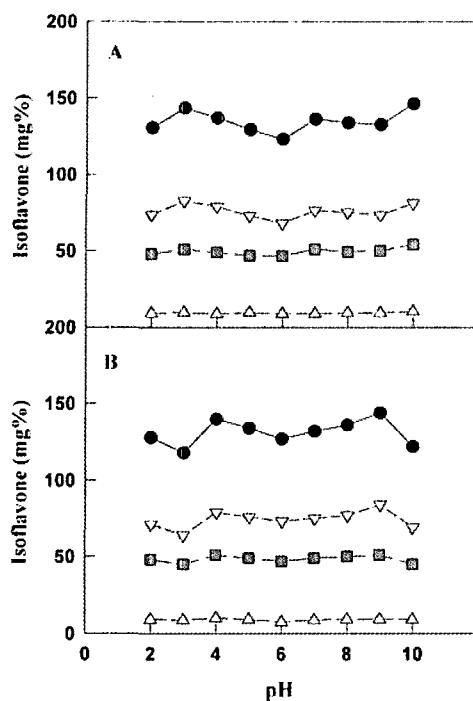


Fig. 5. Effect of pH and heating conditions on isoflavone content and composition of isoflavone in soybean.

A: heat treatment at 100°C for 1 hr, B: heat treatment at 121°C for 20 min.

●: total isoflavone content, ▼: genistein content, ■: diadzein content, ▲: glycitein content.

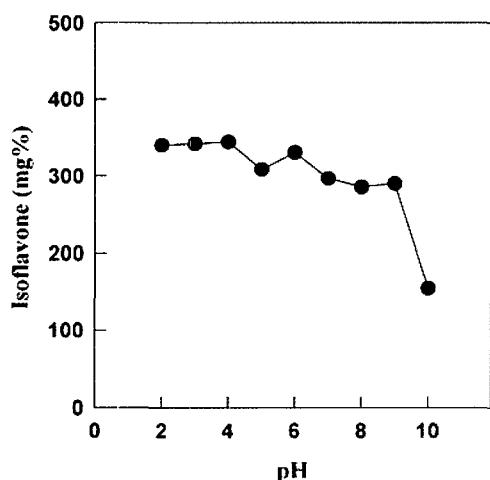


Fig. 6. Effect of pH on the stability of genistein (99%) during heating process (121°C, 1.5 lb, 20 min).

않음). 가열이 끝난 팬으로부터 이소플라본을 추출해 내고 HPLC로 피크전이 및 분해피크의 생성, 총 함량의 변화 등을 분석한 결과에서도 160°C까지의 가열에 안정함을 확인할 수 있었다.

## 요 약

본 연구에서는 콩 식품의 품질 및 가공적성을 최적화하기

위해 대두 이소플라본 추출물의 생리활성과 가공적성에 대한 실험을 수행하였다. 메탄을 추출 이소플라본의 free radical 소거능이 가장 우수하였고, 아질산 소거능은 메탄올, 에탄올과 열수추출물의 순으로 나타났다. ACE 저해작용은 이소플라본이 가장 많이 추출된 메탄올 추출물보다 열수추출물에서 더 큰 효과를 보였다. 또한, 한국인에게 호발하는 위암세포(SNU-1)과 대장암세포(SNU-C4)에 대한 이소플라본 및 대두 추출물의 항종양활성을 확인하였다. 대두 이소플라본이 가공제품이나 특수영양식품으로 가공될 때 문제가 될 수 있는 여러 조건별 안정성을 검토하기 위하여, 분말상태의 대두 이소플라본 농축물(20~40%), 99% 이소플라본 표준품, 대두상태의 이소플라본을 대상으로 열, pH, 살균조건에 따른 안정성을 조사하였다. 대두 이소플라본 농축물은 pH 3 이하와 pH 8 이상의 pH에서 크게 감소하였으나 대두상태의 이소플라본은 pH에 따른 이소플라본의 함량 감소가 없이 거의 일정하게 유지되었다. 99% 이소플라본 표준품은 산성 pH에서는 안정하나 알칼리에서는 대두 이소플라본 추출물보다 감소폭이 커졌다. 한편 이소플라본의 열안정성은 우수하여 이소플라본은 식품의 일반적인 가공 조건에서 안정적인 것으로 나타났다.

## 감사의 글

본 연구는 과학기술부 한국과학재단의 지원을 받아 바이오식품소재 기반기술 개발사업의 일환으로 수행된 연구입니다.

## 문 헌

- Hendrich S, Lee KW, Xu X, Wang HJ, Murphy PA. 1994. Defining food components as new nutrient. *J Nutr* 124: 1789S-1792S.
- Choi MS, Rhee KC. 2006. Production and Processing of soybeans and nutrition and safety of isoflavone and other soy products for human health. *J Med Food* 9: 1-10.
- Mazur WM, Duke JA, Wahala K, Rasku S, Adlercreutz H. 1998. Isoflavonoids and lignans in legumes: Nutritional and health aspects in human. *J Nutr Biochem* 9: 193-200.
- Messina M. 1995. Modern applications for an ancient bean: Soybeans and the prevention and treatment of chronic disease. *J Nutr* 125: 567S-569S.
- Kennedy AR. 1998. Chemopreventive agents: protease inhibitors. *Pharmacol Ther* 78: 167-209.
- Tsukamoto C, Kikuchi A, Harada K, Kitamura K, Okubo K. 1993. Genetic and chemical polymorphisms of saponins in soybean seed. *Phytochemistry* 34: 1351-1356.
- Barnes S, Kim H, Peterson TG, Xu J. 1998. Isoflavones and cancer—the estrogen paradox. *Korea Soybean Digest* 15: 81-93.
- Messina M, Messina V. 1991. Increasing use of soyfoods and their potential role in cancer prevention. *J Am Diet Asso* 91: 836-840.
- Sarkar FH, Li Y. 2003. Soy isoflavones and cancer prevention. *Cancer Invest* 21: 817-818.

10. Messina M, Persky V, Setchell KDR, Barnes S. 1994. Soy intake and cancer risk: A review of the *in vitro* and *in vivo* data. *Nutr Cancer* 21: 113-131.
11. Tikkkanen MJ, Adlercreutz H. 2000. Dietary soy-derived isoflavone phytoestrogen. Could they have a role in coronary heart disease prevention? *Biochem Pharmacol* 60: 1-5.
12. Fonseca D, Ward WE. 2004. Daidzein together with high calcium preserve bone mass and biochemical strength at multiple sites in ovariectomized mice. *Bone* 35: 489-497.
13. Peterson G, Barnes S. 1991. Genistein inhibition of the growth of human breast cancer cell: Independence from estrogen receptors and the multidrug resistance gene. *Biochem Biophys Res Comm* 179: 661-667.
14. Barnes ST, Peterson G, Grubbs C, Setchell KDR, Calson J. 1990. Soybeans inhibit mammary tumors in models of breast cancer. In *Mutagens and Carcinogens in the Diet*. Pariza MD, ed. Wiley-Liss, New York, USA. p 239-253.
15. Coward L, Barnes NC, Setchell KDR, Barnes S. 1993. Genistein, daidzein and their  $\beta$ -glucoside conjugates: antitumor isoflavones in soybean foods from American and Asian diets. *J Agric Food Chem* 31: 394-396.
16. Moon BK, Jeon KS, Hwang IK. 1996. Isoflavone contents in some varieties of soy and on processing conditions. *Korean J Soc Food Sci* 12: 527-534.
17. Kim SR, Kim SD. 1996. Studies on soybean isoflavones: I. Content and sidtrubutuin of isoflavones in Korea soybean cultivars. *RDA J Agric Sci* 38: 155-165.
18. Barnes S, Kirk M, Coward L. 1994. Isoflavones and their conjugates in soy foods: extraction conditions and analysis by HPLC-mass spectrometry. *J Agric Food Chem* 42: 2466-2474.
19. Williams BW, Cuvelier ME, Berset C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm Wiss Technol* 28: 25-30.
20. Kato H, Lee IE, Chuyen NV, Kim SB, Hayase F. 1987. Inhibition of nitrosoamine formation by nondialyzable melanoidines. *Agric Biol Chem* 51: 1333-1338.
21. Charmichael J, DeGraff WG, Gazdar AF, Minna JD, Michell JB. 1987. Evaluation of a tetrazolium-based semiautomated colorimetric assay: assessment of chemosensitivity testing. *Cancer Res* 47: 936-942.
22. Son DW. 1997. Peptides as functional foods and its application. *Food Sci Industry* 30: 22-29.

(2006년 10월 10일 접수; 2006년 12월 4일 채택)