

## 나물용 콩 품종의 종실 및 콩나물 함유 Isoflavone 변이

김영진\*† · 오영진\* · 조상균\* · 김정곤\* · 박명렬\*\* · 윤성중\*\*

\*작물과학원 호남농업연구소, \*\*전북대학교 생물자원과학부

## Variations of Isoflavone Contents in Seeds and Sprouts of Sprout Soybean Cultivars

Young-Jin Kim\*, Young-Jin Oh\*, Sang-Kyun Cho\*, Jung-Gon Kim\*, Myoung-Ryoul Park\*\*, and Song-Joong Yun\*\*

\*Honam Agricultural Research Institute, NICS, RDA, Iksan 570-080, Korea

\*\*Division of Biological Resources Sciences and Institute of Agricultural Science and Technology, Chonbuk Nat'l Univ. Jeonju 561-756, Korea

**ABSTRACT** Biofunctionality of soybean seeds and soybean products have been fortified by the uncovering of the multifunctional beneficial effects of isoflavones. As one way to fully utilize beneficial effects of isoflavones in soybean sprout is through the enhancement of isoflavone contents in soybean seeds, genetic selection for higher isoflavone and cultivational measures to increase isoflavone content in soybean seeds were attempted. Isoflavones (daidzein, genistein) contents in soybean seeds and soybean sprouts were determined by high performance liquid chromatography. Total isoflavone contents in soybean seeds ranged from 756 to 1,682 µg/g and Iksan #13 (1,682 µg/g) showed highest content among the 21 germplasms analyzed. One-time treatment of soybean plants with Antipol or Flaster at the V<sub>4</sub> stage yielded seeds with higher isoflavones as 2,472 µg/g or 2,052 µg/g, respectively, which were higher by 37% and 14% than that of seeds in the control plants, respectively. In Eunhakong, Isoflavone contents of soybean sprout changed during sprouting. Daidzein content in hypocotyl increased to maximum on the third day of cultivation and decreased thereafter, whereas the content changed little in cotyledon. In sprouts of Pungsannamulkong, daidzein content in hypocotyl showed a maximum level on the first day and decreased gradually thereafter but, the content changed little in cotyledon. Total isoflavone contents in lateral roots which developed on the 6th day after sprouting ranged from 4,416 to 5,232 µg/g DW.

**Keywords :** HPLC, isoflavones, plant growth regulators, soybean, sprout

콩은 약 40%의 단백질과 20%정도의 지방을 함유하고 있는 세계적으로 중요한 식량원 종의 하나이다. 최근 콩에 다양한 기능성을 가진 물질들이 함유되어있는 것으로 알려져면서 콩이 건강 기능성 식품 소재로 각광을 받고 있다. 특히 콩에 존재하는 isoflavone은 식물성 estrogen 으로서 알려져 있으며 항산화 및 항암작용 등 그 기능이 다양하게 밝혀지고 있다(Naim *et al.*, 1976). 콩에 존재하는 isoflavone의 isomer들은 aglycons(daidzein, genistein, glycitein)와 그들의 포도당 결합체인 glucosides(daidzin, genistin, glycitin, 6"-O-acetyldaidzin, -genistin, -glycitin, 9"-O-malonyldaidzin, -genistin, -glycitin) 12종이 존재하는 것으로 밝혀졌다 (Kudou *et al.*, 1991). 그 중에서 콩에는 주로 malonyl과 acetyl 형태로서 존재하고 있는데, 이들은 열 등에 약하여 쉽게 다른 배당체로 변환될 수 있다(Kim *et al.*, 1996). 특히 genistein은 유방암 및 전립선암 등 암세포의 증식을 억제하는 것으로 알려져 있으며(Akiyama *et al.*, 1987), daidzein은 노인과 폐경기 여성의 골다공증을 예방한다고 알려져 있다(Peterson & Barnes, 1991).

콩에 함유된 isoflavone의 함량은 품종 및 재배지역에 따라 변이가 크며, 등숙기의 고온에 의해서는 isoflavone 함량이 낮아진다(Kitamura *et al.*, 1991). Isoflavone 함량은 재배 방법에 의해서도 영향을 받는다. Cho & Harper(1991)는 콩에 질소고정균인 *B. japonicum*을 접종하면 isoflavone이 증가하나, 질소시비를 하면 isoflavone이 오히려 감소한다고 보고하였다. 그러나 식물생장조절제 처리가 isoflavone 함

†Corresponding author: (Phone) +82-63-840-2237  
(E-mail) yjikim@rda.go.kr

량에 미치는 영향에 대해서는 아직 보고된 바 없다.

콩식품의 가공 및 조제 과정에 의해서도 isoflavone의 함량 및 형태가 변화하는 것으로 알려져 있다. Wang & Murphy(1994)는 콩을 원료로 만든 식품 중 발효과정을 거친 가공품에서는 isoflavone이 aglycon 상태로서 많이 존재하며 일반 가공품에서는 glucoside 형태로 많이 존재한다고 보고하였다. Kim & Kim(1996)은 7일간 재배한 단엽콩의 콩나물 부위별 isoflavone 분포를 조사하였는데, 총 isoflavone 함량은 단위 건물중 단위로는 증가하였으나, 콩나물의 수율과 수분함량을 고려하면 오히려 감소하는 경향을 나타냈다고 보고하였다.

본시험은 isoflavone 고함유 나물콩을 육성하기 위해 선발된 나물콩 장려품종과 유전자원의 종실 함유 isoflavone 함량을 조사하였다. 또한, 등숙기의 콩 식물체에 대한 식물생장조절제의 처리가 종실 함유 isoflavone 함량에 미치는 영향과 콩나물 재배기간에 따른 콩나물 함유 isoflavone 함량 변화를 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 종실 시료의 준비

100립중이 14 g 이하인 나물콩 21품종을 공시하여 전북김제소재의 작물과학원 호남농업연구소 전작포장에 재배하였다. 파종은 6월 15일에 60×10 cm로 실시하였으며, 시비는 N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O를 4-7-6 kg/10a으로 전량기비로 사용하였다. 등숙이 완료된 종자를 수확하여 종실 함유 isoflavone을 분석하였다.

### 식물생장조절제 처리

식물의 낙과방지에 사용되는 안티풀(Antipol), 식물의 생장촉진에 이용되는 아토닉(Atonic), Benzyladenopurine(BAP), 후라스타(Flaster), 지베렐린(Gibberellin) 및 토마토톤(Tomatoton)과 같은 생장조절제 함유 약제가 콩 종실의 isoflavone 생합성에 미치는 영향을 조사하였다. 풍산나물콩을

대상으로 실시한 예비시험 결과 효과적인 처리시기는 V<sub>4</sub>시기(제3복엽기)이며, 각 약제별 유효 처리 농도는 안티풀(미성알파, dichloprop triethanol amine) 20 mL/20 ℥, 아토닉(미성) 5 mL/20 ℥, Benzyladenopurine (BAP) 100 mg/ℓ, 후라스타(바이엘, mepiquat chloride 44%) 20 mL/20 ℥, 지베렐린(경농, gibberellin) 20 mL/20 ℥ 및 토마토톤(동부) 200 mL/20 ℥ 이었다. 따라서, V<sub>4</sub>시기에 각 약제의 유효 처리 농도의 용액을 콩식물체의 엽면에 1회 충분량 분무처리하였다. 시험구배치는 난괴법 3반복으로 수행하였다.

### 콩나물 재배

은하콩과 풍산나물콩을 이용하여 콩나물을 재배하였다. 재배방법은 원료콩을 정선하여 18°C 수돗물에 12시간 침종 후 4시간 간격으로 관수해 주면서 18°C 재배조건에서 8일간 생육시켰다. 조사방법은 콩나물의 재배일수별(1-8일) 및 부위별(자엽, 배축, 뿌리)로 시료를 채취하여 동결건조기에서 3일 동안 건조시킨 후 건물중에 대한 daidzein 및 genistein의 함량을 분석하였다.

### Isoflavone 분석방법

동결건조 시켜 곱게 마쇄한 콩 종실 시료 2 g에 12 mL 1N HCl을 가한 후 100°C heating block(Thermolyne, USA)에서 1시간 동안 당을 가수분해시켜 aglycon 형태로 변형시켰다(Wang *et al.*, 1990). 여기에 다시 12 mL Methanol을 첨가한 후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하고 상등액을 취하여 0.2 μm 실린지 필터를 통해 여과시킨 후 HPLC(High-performance liquid chromatography, Hitach Co. Japan)로 분석하였으며, 분석조건은 Table 1과 같다. 컬럼은 μ-Bondapak C<sub>18</sub> (10 μm, 3.9 mm × 300 mm)을 사용하였으며, 시료는 50 μL를 주입시켰다. 이동상으로는 methanol과 1 mM ammonium acetate를 6 : 4의 비율로 혼합하여 1 mL/min 유속으로 30분 동안 통과시켰으며, 파장은 UV detector (Hitach Co.)를 사용하여 254 nm에서 검출하였다 (Murphy, 1981). Isoflavone 분석은 인체생리활성이 우수한

Table 1. HPLC conditions for isoflavones analysis in soybean.

Column	μ-Bondapak C <sub>18</sub> (10 μm, 3.9 mm × 300 mm)
Mobile phase	Methanol : 1 mM ammonium acetate = 6 : 4 (v/v)
Detector	UV 254 nm
Flow rate	1.0 mL/min
Injection volume	50 μL (set 10 μL sample loop)
Temperature	ambient

것으로 알려진 daidzein 및 genistein의 함량을 분석하였으며, 표준품은 Sigma사 제품을 사용하였다. 실험은 완전임의 배치 3반복을 수행하였으며, 조사 성적에 대한 DMRT 분석(5% 수준)을 실시하였다.

## 결과 및 고찰

Daidzein과 genistein 표준물질을 구입하여 농도별 검량선을 작성한 결과 Fig. 1과 같이 매우 정밀한 검량식을 구할 수 있었다.

동결건조 시킨 콩 시료는 1N HCl을 가한 후 100°C에서 1시간 동안 당을 가수분해시켜 isoflavone의 aglycon 형태로 변형시켜 분석하였는데, Choi *et al.*(1996)에 의하면 daidzein은 1N HCl을 가한 후 100°C에서 90분 처리했을 때 함량이 가장 많았으며, genistein은 1시간 처리에서 가장 양 흐했다고 보고한 바 있다. 콩 종실의 isoflavone을 HPLC를 이용하여 분석한 결과 daidzein과 genistein이 다량 존재하였으나 glycine은 극히 소량만 검출되었다.

나물콩 품종 및 유전자원 종실의 총 isoflavone 함량은 756~1,682 µg/g으로 품종간 차이가 커졌다. 종실의 Isoflavone 함량은 익산 13호(1,682 µg/g), 남원재래, IT 160996, 명주나물콩, 익산나물콩 및 도래미콩에서 높았고, 남해콩 및 IT 108951에서는 낮았다(Table 2). Jeon *et al.*(1996)은 우리나라에서 재배되고 있는 14종의 콩을 수집하여 isoflavone 함량을 분석한 결과 콩 품종에 따른 isoflavone 함량의 차이가 매우 커서 그 함량 범위가 308~1,134 µg/g으로 다양했으며, isoflavone을 가장 많이 함유한 품종은 단엽 콩(Choi *et al.*, 1996)이라고 보고한 바 있다. Kim *et al.*(2003)도 우리나라 나물콩 66품종의 isoflavone 함량을 분석하였는데, 총 isoflavone의 평균 함량은 1,209 mg/kg이었으며 함량범위는 247~2,256 mg/kg이었고 daidzein과 genistein이 약 1 : 1의 비율로 함유되어 있었다고 보고하였다. 본 실험에서 daidzein 함량은 익산 13호(924 µg/g), IT 160996, 익산나물콩 및 남원재래에서 높았으며, genistein 함량은 익산 13호(758 µg/g), 남원재래, IT 160996 및 명주나물콩에서 높았다(Table 2).

**Table 2.** Isoflavone contents in soybean cultivars and selected germplasms.

Source	Isoflavone content (µg/g)		
	Daidzein	Genistein	Daidzein + genistein
Bukwangkong	456	360	816
Danyeobkong	684	480	1,164
Eunhakong	564	420	984
Kwangankong	648	492	1,140
Hannamkong	468	348	816
Iksannamulkong	744	492	1,236
Paldokong	504	432	936
Iksan #13	924	758	1,682
Doremikong	684	540	1,224
IT 105503	516	492	1,008
IT 108951	420	336	756
IT 160866	528	480	1,008
IT 160996	828	648	1,476
IT 161469	504	372	876
IT 162381	624	384	1,008
IT 161998	444	492	936
Myeongjunamulkong	612	636	1,248
Namhaekong	468	324	792
NamwonJaerae	744	756	1,500
Pureunkong	540	372	912
Sobaegnamulkong	468	372	840
Mean	589.1	475.5	1016.3
CV (%)	36.2	31.7	48.2

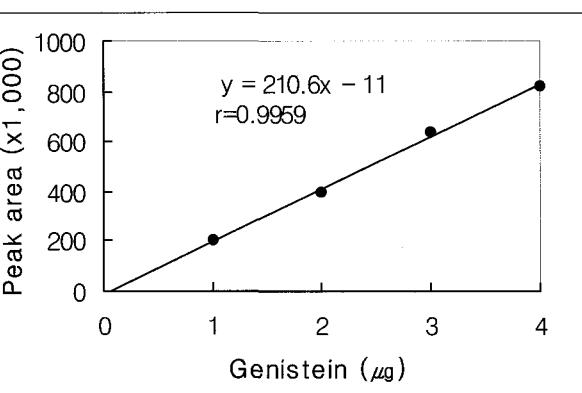
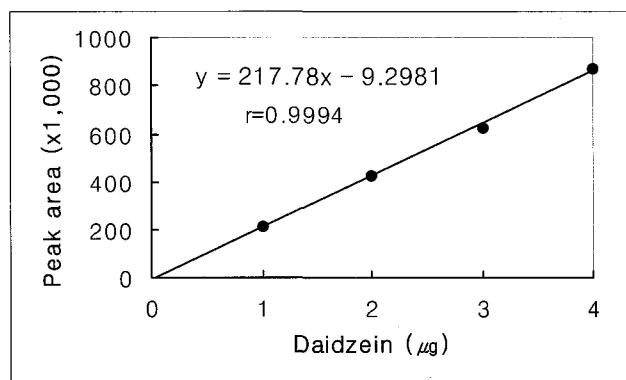


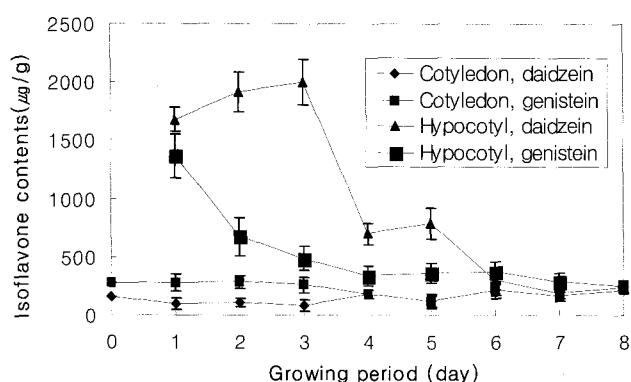
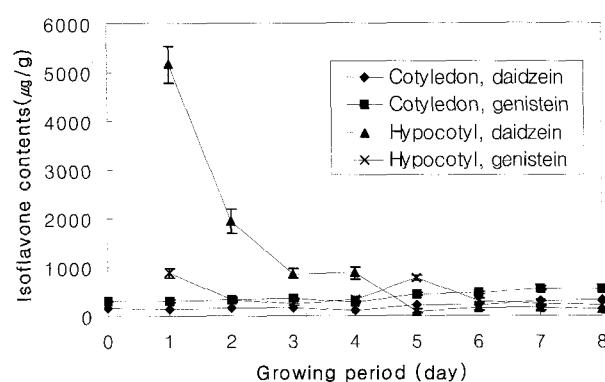
Fig. 1. Calibration curve of isoflavone standards.



**Table 3.** Effect of plant growth regulators for isoflavone contents in soybean cultivar Pungsannamulkong.

Plant growth regulators	Isoflavone content ( $\mu\text{g/g}$ )			Index (%)
	Daidzein	Genistein	Daidzein + genistein	
Control	912c <sup>+</sup>	888cd	1,800d	100
Antipol	1,320a	1,152a	2,472a	137
Atonic	912c	900cd	1,812d	101
BAP	924c	912c	1,836c	102
Flaster	1,092b	960b	2,052b	114
Gibberellin	828e	792e	1,620f	90
Tomatoton	876d	876d	1,752e	97

<sup>+</sup>Values in a column with different letters are significantly different at  $\alpha=0.05$ .

**Fig. 2.** Changes of isoflavone contents in soybean sprouts (Eunhakong) at different growing periods.**Fig. 3.** Changes of isoflavone contents in soybean sprouts (Pungsannamulkong) at different growing periods.

영양생장기( $V_4$ 시기)에 아토닉(Atonic), Benzyladenopurine(BAP), 후라스타(Flaster), 지베렐린(Gibberellin) 및 토마토톤(Tomatoton)을 처리한 풍산나물콩의 성숙 종실의 daidzein과 genistein 총 함량은  $1,620 \mu\text{g/g} \sim 2,472 \mu\text{g/g}$ 으로 큰 변이를 나타내었다(Table 3). 특히 안티폴( $2,472 \mu\text{g/g}$ )과 후라스타( $2,052 \mu\text{g/g}$ ) 처리에서는 대조군( $1,800 \mu\text{g/g}$ )보다 총 isoflavone 함량이 각각 37% 및 14% 높았다. 이는 콩의 재배시기 중 단 1회의 식물생장조절제 처리를 통하여 콩 종실의 isoflavone 함량을 현저히 높일 수 있는 가능성을 시사하는 결과로서 고기능성 나물콩 원료콩 생산 기술 개발에 유용한 기초정보로 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

Fig. 2와 Fig. 3은 은하콩을 이용하여  $18^\circ\text{C}$ 에서 8일간 콩나물을 재배하면서 부위별로 건물중에 따른 isoflavone의 함량변화를 나타낸 것이다. 콩나물을 재배일수 경과에 따른 isoflavone 함량변화는 자엽의 경우에는 거의 일정했으나, 배축의 경우 daidzein이 치상 후 3일까지는 증가하다가 4일

째부터 급격히 감소하는 경향을 나타냈으며, 배축의 genistein 함량은 콩나물 재배기간이 경과할수록 감소하였다. 이 같은 결과는 콩나물 재배기간이 증가함에 따라 총 isoflavone 함량은 재배 3일째에 가장 높았으며 5일째 감소하는 경향을 보였다는 결과(Kim & Kim, 2002)와 일치하고 있다. Kim & Kim(1996)은 7일간 재배한 단엽콩의 콩나물 부위별 isoflavone 분포를 조사하였는데 건물중으로 뺐을 때 총 isoflavone 함량은 증가하였으나, 콩나물의 수율과 수분함량을 고려하면 오히려 10배 정도 감소한다고 하였다. 일반적으로 콩에 존재하는 isoflavone의 함량은 건물중으로 볼 때 배축(hypocotyl) 부위가 자엽(cotyledon) 부위에 비해서 약 6배 정도 많은 것으로 보고되고 있으나, 콩나물의 경우에는 그 반대의 경향을 나타내고 있어서 배축에 존재하는 isoflavone은 빨아서 대부분 소실되나 특히 잔뿌리에는 daidzein이 다량 집적되는 결과를 나타낸다고 보고된 바 있다(Kudou et al., 1991). Kim et al.(2003)은 콩나물 30종의

isoflavone 함량을 분석하였는데 콩나물 재배시 총 isoflavone 함량은 평균 1.4배 증가하였으며 재배일수에 따라 증가하다가 5일째에 가장 높은 함량을 나타내었다고 하였다. 또한 콩나물의 부위별 총 isoflavone 함량은 뿌리, 자엽, 배축 순으로 높게 나타났으며 daidzein의 함량은 뿌리에서 가장 높았고 genistein의 함량은 자엽에서 가장 높았다고 보고하였다.

풍산나물콩의 콩나물 재배일수 경과에 따른 isoflavone 함량은 자엽의 경우에는 거의 일정했으나, 배축의 경우에는 온하콩에서와 달리 daidzein이 치상 후 1일(콩이 발아하는 시기)에 5,154  $\mu\text{g/g}$ 까지 증가했으며 재배일수가 경과함에 따라 급격히 감소하는 경향을 나타냈다. 이는 Ha *et al.* (1992)이 50°C 증류수에 6시간 침지한 콩의 isoflavone 함량이 가장 높았으며, 콩의 발아시에도 isoflavone의 축적이 이루어진다는 결과(Wang *et al.*, 1990)와 일치하고 있다. 배축의 genistein 함량은 큰 변동을 보이지 않았다(Fig. 3). 콩나물재배 6일째부터는 배축의 아래 부분에서 잔뿌리가 발생하였는데 isoflavone 함량이 4,416  $\mu\text{g/g}$ ~5,232  $\mu\text{g/g}$ 으로 매우 높았다. 이는 Jeon *et al.*(1996)이 시판 콩나물의 부위별 isoflavone 함량을 조사하여 뿌리에 55.8~142.8  $\mu\text{g/g}$ , 머리(자엽)에 149.8~189.3  $\mu\text{g/g}$ , 줄기(배축)에 3.4~8.8  $\mu\text{g/g}$  정도 존재하는 것으로 나타나서, 자엽과 뿌리에 많은 양의 isoflavone이 함유되어 있음을 보고한 결과와 일치하고 있다.

이상의 콩나물에서의 총 isoflavone 함량 변화 조사 결과는 콩나물 부위에 따른 함량 및 함량의 경시적 변화 양상이 품종에 따라 상이함을 나타낸다. 따라서 고기능성 콩나물콩을 육성하기 위해서는 원료콩 종실의 isoflavone 함량이 높으면서 콩나물이 식용으로 이용되는 시기까지 isoflavone 함량이 크게 감소하지 않는 특성을 지닌 품종을 선발하는 것이 중요할 것으로 생각된다.

## 적  요

우수한 기능성을 가진 나물콩을 생산하기 위하여 isoflavone 함량이 높은 품종을 선발하고, 재배적 방법에 의한 원료콩 종실의 isoflavone 함량의 증진 가능성을 조사하는 한편, 콩나물의 재배 일수에 따른 콩나물 부위별 isoflavone 함량의 경시적 변화 양상을 조사한 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 공시한 나물콩 21품종의 종실에 함유된 daidzein과 genistein의 총 함량은 756~1,682  $\mu\text{g/g}$ 으로 품종간 차이가

컸으며, 특히 익산 13호(1,682  $\mu\text{g/g}$ ) 및 남원재래(1,500  $\mu\text{g/g}$ )에서 함량이 높았다.

2. Daidzein 함량은 익산 13호(924  $\mu\text{g/g}$ ) 및 IT 160996(828  $\mu\text{g/g}$ )에서 높았으며, genistein 함량은 익산 13호(758  $\mu\text{g/g}$ ) 및 남원재래(756  $\mu\text{g/g}$ )에서 높았다.

3. 풍산나물콩의 영양생장기에 식물생장조절제인 안티풀(2,472  $\mu\text{g/g}$ )과 후라스타(2,052  $\mu\text{g/g}$ )를 처리하였을 때 daidzein과 genistein의 총 함량이 대조군(1,800  $\mu\text{g/g}$ )에 비하여 각각 37%와 14% 증가하였다.

4. 온하콩의 콩나물 재배일수 경과에 따른 isoflavone 함량은 자엽의 경우 변화가 미미하였으나, 배축의 경우 daidzein이 치상 후 3일까지 증가하다 4일째부터 급격히 감소하는 경향을 나타냈으며, 배축의 genistein 함량은 콩나물 재배기간이 경과할수록 감소하였다.

5. 풍산나물콩의 콩나물 재배일수 경과에 따른 isoflavone 함량은 온하콩과 달리 자엽의 경우에는 변화가 미미하였으나, 배축의 경우 daidzein이 치상 후 1일에 5,154  $\mu\text{g/g}$ 까지 증가했으나 재배일수가 경과함에 따라 급격히 감소하는 경향을 나타냈으며, 배축의 genistein 함량은 큰 변동을 보이지 않았다.

6. 콩나물재배 6일째부터 발생한 잔뿌리에는 isoflavone 함량이 4,416  $\mu\text{g/g}$ ~5,232  $\mu\text{g/g}$ 으로 매우 높았다.

7. 고기능성 나물용 콩을 육성하기 위해서는 원료콩 종실의 isoflavone 함량이 높고, 콩나물이 식용으로 이용되는 시기까지 isoflavone 함량이 크게 감소하지 않는 특성을 가진 품종의 육성이 필요할 것으로 생각된다.

## 인용문헌

- Akiyama, T., J. Ishida, S. Nakagawa, H. Ogawara, S. Watanabe, N. Itoh, M. Shibuya and Y. Fukami. 1987. Genistein, a specific inhibitor of tyrosine-specific protein kinases. *J. Biol. Chem.* 262 : 5592-5595.  
 Cho, M. J. and J. E. Harper. 1991. Effect of inoculation and nitrogen on isoflavanoid concentration in wild-type and nodulation-mutant soybean roots. *Plant Physiol.* 95 : 435-442.  
 Choi, J. S., T. W. Kwon and J. S. Kim. 1996. Isoflavone contents in some varieties of soybean. *Foods and Biotech.* 5(2) : 167-169.  
 Ha, E. Y. W., C. V. Morr and A. Seo. 1992. Isoflavone aglucones and volatile organic compounds in soybeans; Effects of soaking treatments. *J. Food Science* 57 : 414-418.  
 Jeon G. S., I. K. Whang and B. K. Moon. 1996. Isoflavone

- contents in some varieties of soybean and on processing conditions. *Kor. J. Food and Cookery Sci.* 12(4) : 527-534.
- Kim E. M., K. J. Lee and G. M. Gee. 2004. Comparison in isoflavone contents between soybean and soybean sprouts of various soybean cultivars. *Kor. J. Nutrition* 37(1) : 45-51.
- Kim G. S. and M. J. Kim. 2002. Physicochemical characteristics and the change in isoflavone content of imported soybean during sprouting. *Natural Sci. Yongin Univ.* 7(1) : 63-69.
- Kim, S. R. and S. D. Kim. 1996. Studies on soybean isoflavones. I. Content and distribution of isoflavones in Korean soybean cultivars. *RDA. J. Agri. Sci. (Post Doc.)* 38 : 155-165.
- Kim, Y. H., S. D. Kim, E. H. Hong and W. S. Ahn. 1996. Physiological Function of isoflavones and their genetic and environmental variations in soybean. *Kor. J. Crop Sci.* 41(Spec.) : 25-45.
- Kim, Y. H., Y. H. Whang and H. S. Lee. 2003. Analysis of isoflavones for 66 varieties of sprout beans and bean sprouts. *Kor. J. Food Sci. Technology* 35(4) : 568-575.
- Kitamura K., K. Igita, A. Kikuchi, S. Kudo and K. Okubo. 1991. Low isoflavone content in some early maturing cultivars, co-called "summer-type soybeans" (*Glycine max* (L) Merrill). *Japan J. Breed* 41 : 651
- Kudou, S., Y. Fleury, D. Welt, D. Magnolato, T. Uchida, and K. Kitamura. 1991. Malonyl isoflavones glycosides in soybean seeds (*Glycine max* Merrill.). *Agric. Biol. Chem.* 55 : 2227-2233.
- Murphy, P. A. 1981. Separation of genistin, daizin and their aglucones and coumesterol by gradient high performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 211 : 166-169.
- Naim, M., B. Gestetner, S. Zilkah, Y. Birk and A. Bondi. 1976. Soybean isoflavones, characterization, determination, and antifungal activity. *Agric. Food Chem.* 22 : 806-810.
- Peterson, G., S. Barnes. 1991. Genistein inhibitions of the growth of human breast cancer cells: independence from estrogen receptors and the multi-drug resistance gene. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 179 : 661-667.
- Wang, G. S. Kuan, O. Fransis, G. Ware and A. S. Carman. 1990. A simplified HPLC method for the determination of phytoestrogens in soybean and its processed products. *J. Agric. Food Chem.* 38 : 185-190.
- Wang, H. and P. A. Murphy. 1994. Isoflavone content in commercial soybean foods. *J. Agric. Food Chem.* 42 : 1666-1673.