

*Lactobacillus plantarum*과 *Bifidobacterium longum*을 이용한 대두 이소플라본의 비배당체로의 전환

김인복·신 선·임병락¹·성금수²·이영은^{*}

원광대학교 식품영양학전공·생활자원개발연구소, ¹(주)H&BT, ²군산대학교 화학과

Bioconversion of Soybean Isoflavone by *Lactobacillus plantarum* and *Bifidobacterium longum*

In-Bok Kim, Sun Shin, Byung-Lak Lim¹, Gem-soo Seong² and Young-Eun Lee^{*}

Department of Food and Nutrition · Institute for better living, Wonkwang University

¹Human and Biotechnology Co., Ltd., ²Department of Chemistry, Gunsan University

Abstract

In this study, phytoestrogen for the industrial production of soybean probiotics by lactic acid bacteria (LAB) was studied in a soybean extract. Soybean was fermented with LAB, *Lactobacillus plantarum* KCTC 3108 and *Bifidobacterium longum* ATCC 15707. The change in the content of various isoflavones (aglycone and glucoside) and the β -glucosidase activity in soybean during fermentation were investigated and shown to be dependent on the starter organism. Soybean extract powder fermented with *L. plantarum* showed the highest β -glucosidase activity and the greatest increase in the aglycone content. After 48h of fermentation, the contents of daidzin, genistin and glycitin in *L. plantarum* decreased from a mean initial levels of 83.03 \pm 2.17, 168.13 \pm 8.17 and 20.02 \pm 1.07, respectively, to mean levels of 5.34 \pm 3.24, 3.79 \pm 0.57 and 1.87 \pm 1.09 mg/100 g. Whereas, after 48h fermentation, the contents of daidzein, genistein and glycitein increased from a mean initial levels of 8.09 \pm 0.78, 11.20 \pm 0.84 and 4.71 \pm 0.46, respectively, to mean levels of 85.76 \pm 0.84, 175.87 \pm 2.21 and 22.41 \pm 0.91 mg/100 g. Taken together, these results suggested an increase of aglycones and decrease of glucoside in isoflavones occurred during fermentation, which coincided with an increase of β -glucosidase activity in the fermented soybean extract powder.

Key words: lactic acid bacteria, bifidobacteria, isoflavone, β -glucosidase, fermented soybean extract

1. 서론

대두(*Glycine max* L.)는 콩과(Leguminosae)에 속하는 1년생 초본 또는 그 열매를 말하며 식용작물로서 널리 재배하고 있다. 주요 성분으로는 단백질이 평균 40%, 탄수화물 35%, 지방 20%로 영양성분 함량이 높을 뿐만 아니라 무기질과 비타민이 풍부하다. 대두에 존재하는 기능성 성분 중 이소플라본(isoflavone)이 대표적이며 사포닌, 피트산, 피니톨, 트립신 저해제, 올리고당 등과 같은 생리활성을 돕는 성분이 함유되어 있어 어느 작물보다 영양적 가치가 우수하다(이영은, 홍승현 2003). 미국 또

한 두류의 기능성에 대한 관심이 높아짐에 따라 미국식품의약국(FDA)은 1999년 10월 대두단백질 섭취 시 순환기 질환의 위험을 감소시킨다는 건강강조표시(health claim)를 인가하였으며, 이러한 효과는 대두에 함유된 이소플라본 성분에 의한 것임을 입증하면서부터 큰 관심을 모으게 되었다(정동호 2005).

이소플라본은 리그난(lignan)과 함께 식품에서 발견되는 식물성 에스트로젠(phytoestrogen)으로 에스트로젠과 유사한 생리활성을 나타내며 장내균총에 의해 생리활성을 나타내는 피토케미컬(phytochemical)이다. 대두의 이소플라본은 다이드제인(diadzein), 제니스테인(genistein), 글리시테인(glycitein) 3종류의 비배당체(aglycone)와 각각의 배당체(glycoside)인 다이드진(diadzin), 제니스틴(genistin), 글리시틴(glycitin) 그리고 말로닐화(malony-), 아세틸화(acetyl-), 베타-글루코사이드를 포함하여 12종류의 존재가 확인되어 있다(Shigemitsu K 등 1991). Xu X 등(1994)과 Adlercreutz

^{*}Corresponding author: Young-Eun Lee, Department of Food and Nutrition, Wonkwang University
Tel: 063-850-6896
Fax: 063-850-6077
E-mail: yelee@wku.ac.kr

H(1995)의 보고에 의하면 대두 이소플라본의 화학구조의 차이에 따라 다양한 생리기능성을 나타내며, 그 중 티로신 키나아제 활성 저해 작용을 갖는 제니스테인의 생리적 활성이 가장 높은 것으로 알려져 있고 유방암, 대장암, 자궁암 등의 억제효과가 탁월하며 동맥경화 및 LDL 콜레스테롤 감소, 순환기질환 및 골다공증 등 만성 질환의 예방효과가 높다고 보고된 바 있다(Peterson G와 Barnes S 1991, Clarkson TB 등 1995, Anthony MS 등 1998). 이소플라본은 식품 중에서 배당체 형태로 존재하므로 체내에 흡수되기 위해서는 장내균총에 의해 대사된 후 체내에 흡수되지만, 체내흡수율이 매우 낮아 이를 보완하기 위해 배당체 형태의 이소플라본을 비배당체 형태로 전환하는 생물전환(bioconversion) 공정 기술 및 가공기술이 절실히 필요한 상태이다. 또한, 앞서 서술했던 바와 같이 Setchell KDR과 Cassidy A(1999)의 연구에서 비배당체 형태의 대두 이소플라본의 생물학적 활성은 에스트로겐과 유사하여 체내에서 배당체 형태보다 빠르게 흡수된다고 알려져 있다(Izumi T 등 2000).

따라서 본 연구에서는 두유 발효에 주로 이용되고 있는 장내 유익균인 *Lactobacillus*속(Choi YB 등 1999, Park KB와 Oh SH 2007)과 *Bifidobacterium*속(Shimakawa Y 등 2003)의 유산균을 이용하여 대두 추출분말을 발효시킨 후, 이소플라본이 배당체 형태에서 비배당체 형태로 변화 하는 정도를 확인하고자 한다.

II. 연구 내용 및 방법

1. 실험재료

발효 대두추출물의 제조에 사용한 대두 추출분말(이소플라본 5% 이상 함유)은 양지물산에서 분양받아 실험에 사용하였으며, 대두 이소플라본의 표준품인 제니스테인, 제니스틴, 다이드제인, 다이드진, 글리시테인, 글리시틴은 Chromadex(Irvine, CA, USA) 제품을 사용하였다. HPLC 컬럼은 Alltech(Deer-field, IL, USA)의 Gromsil-ODS 컬럼(4.6×260 mm)을 사용하였고, 이동상 용매는 Merck(Darmstadt, Germany)의 HPLC grade를 사용하였다. 기타 실험에 사용한 시약은 특급시약을 사용하였다.

2. 사용균주

대두 추출분말을 발효시키는데 사용한 유산균으로 *Bifidobacterium longum* ATCC 15707과 *Lactobacillus plantarum* KCTC 3108은 한국생명공학연구원에서 분양받아 실험에 사용하였다. 보존용 배지로는 *Lactobacilli* MRS 한천배지(Difco, Sparks, MD, USA)를 사용하였으며, 균주 배양은 MRS broth(Difco, Sparks, MD, USA)에서 37°C, 24시간 동안 배양하여 발효 대두추출물 제조에 이용하였다.

3. 유산균을 이용한 발효 대두추출물의 제조

Bifidobacterium longum ATCC 15707과 *Lactobacillus plantarum* KCTC3108 2종의 유산균을 각각 MRS 액체 배지를 이용하여 37°C에서 정치 배양하여 활성화하였고, 대두 추출분말을 증류수에 각각 5%씩 첨가하여 배지를 제조하고 멸균시킨 후 활성화된 각각의 유산균을 1% (1.0×10⁶ CFU/mL)씩 접종하여 12~48시간 동안 배양하였고, 배양 후 발효여액을 분석 시료로 이용하였다.

4. pH 및 산도 측정

대두 추출물 발효과정 중 pH meter(Satorius, USA)를 이용하여 pH를 3회 반복 측정하였고, 산도는 AOAC법(1990)에 의해 시료용액 10 mL를 취해서 증류수로 2배 희석한 후 지시약물인 페놀프탈레인을 사용하여 0.1 N NaOH로 pH가 8.3이 될 때까지 적정하여 중화시키는데 소요된 NaOH의 양(mL)을 다음 식을 이용하여 유산(lactic acid) 함량(%)으로 환산하여 총산 함량을 표시하였다.

$$\text{lactic acid(\%)} = \frac{0.1\text{N NaOH의 적정 mL수} \times 0.009}{\text{시료의 mL수}} \times 100$$

5. 유산균수 측정

일정량의 시료를 무균 처리하여 멸균 생리식염수(0.85%)로 10배 희석하여 MRS broth(Difco, Sparks, MD, USA)와 agar powder를 혼합하여 만든 배지에 시료를 분주하고 표준 평판 배양법에 따라 35~37°C 배양기에 48시간 동안 배양한 후 집락(colony) 수가 30~300개 사이의 평판을 선택하여 산출하였다. 황색의 집락으로 계측하고, 미생물수는 시료 1 g 당 colony forming unit(CFU)로 나타내었다.

6. β-glucosidase 활성 측정

Kim JH 등(1998)이 사용한 Kohchi법을 응용하여 5 mM p-nitrophenyl-β-D-glucosidase(PNPG)를 포함한 50 mM Sodium acetate buffer(pH 5.0) 1 mL와 조효소액 0.1 mL를 혼합하여 50°C에서 10분간 반응시킨 후, 미리 냉각된 1 M Na₂CO₃ 1 mL를 가하여 반응을 정지시킨 후 400 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준 반응조건에서 1 μM/min의 p-nitrophenol(PNP)를 생산하는데 필요한 효소활성을 1 unit으로 정의하였다.

7. Isoflavone 함량 분석

발효 대두추출분말에 함유된 이소플라본 함량 분석은 Tsangalis D 등(2002)의 방법을 변형하여 분석하였다. 시료 약 1 g을 취하여 250 mL 등근 플라스크에 넣고 메탄올 50 mL를 넣은 후, 항온수조에서 1시간 동안 추출한

다음 Whatman No.1 여과지를 사용하여 시료용액을 여과하였다. 여과한 시료용액은 회전식 증발농축기를 사용하여 건조하였고 잔류물은 HPLC 이동상 용매를 사용하여 용해시킨 후, Ependorff 원심분리기(14,000 g×, 30분)로 원심 분리하여 얻어진 상층액을 취하여 HPLC로 정량하였다. HPLC 분석조건은 다음과 같다: acetonitrile(solvent A)과 0.1% trifluoroacetic acid를 포함하는 10 mM ammonium acetate(solvent B)를 이동상으로 하여 1 mL/min 유속으로 시료를 주입한 후, 2분 동안 solvent B 100%, 2분에서 22분까지 66%, 22분부터는 66%로 계속 유지시키면서 UV검출기(260 nm)를 사용하여 정량하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 발효 중 pH 및 산도의 변화

대두 추출분말에 유산균을 배양하여 37°C에서 발효시키면서 pH 및 적정산도의 변화를 측정한 결과를 Table 1과 Table 2에 제시하였다. 발효 전 대두 추출물의 pH는 6.5였으며, *Lactobacillus plantarum* KCTC 3108로 발효한 균에서는 12시간 경과되었을 때 pH 5.24에서 시간이 경과함에 따라 48시간에 pH 3.89로 점차 감소하는 경향을 보였다. *Bifidobacterium longum* ATCC 15707로 발효한 균도 마찬가지로 12시간 경과되었을 때 pH 5.56에서 시간이 경과함에 따라 48시간에 pH 4.06으로 감소하는 경향을 보였으며, *Lactobacillus plantarum* KCTC 3108로 발효한 균에 비해 12시간 간격마다의 pH가 약간 높게 나타났다.

적정 산도는 대두 추출분말에 유산균 발효 시 시간이 경과함에 따라 점차 증가하는 경향을 보였으며, *Lactobacillus plantarum* KCTC 3108로 발효한 균에서 12시간에서 24시간 사이에 산도가 급격하게 증가하였고, 36시간과 48시간 사이에는 완만하게 증가하였다. 따라서 24시간 이후부터 산 생성을 가장 활발하게 하는 시점으로 사료된다. *Bifidobacterium longum* ATCC 15707로 발효한 균도 마찬가지로 12시간에서 24시간 사이에 비교적 급격하게 증가하였고, 36시간과 48시간 사이에서는 완만하게 증가하는 경향을 나타내었다.

Lactobacillus plantarum KCTC 3108로 발효한 균이 *Bifidobacterium longum* ATCC 15707로 발효한 균보다 12시간에서 산도가 낮게 나타나는 경향을 보였지만, 시간이 경과함에 따라 48시간 후에는 두 균주 모두에서 증가하는 경향을 나타내었다. 이러한 결과는 Yu JH 등 (1988)의 연구결과와 유사한 경향을 나타내었으며, 이는 *Lactobacillus plantarum* KCTC 3108과 *Bifidobacterium longum* ATCC 15707 두 균주 모두 산의 생성량이 많고 생성 속도가 빠르기 때문에 산도가 증가 하는 것으로 생각된다.

Table 1. The pH, titrable acidity, viable cell counts of the fermentation product of soybean extract powder by *Lactobacillus plantarum* KCTC 3108

Incubation time	<i>L. plantarum</i> KCTC 3108		
	pH	Titrable acidity (%)	cell counts (1×10^8 CFU/mL)
12h	5.24	0.29	2.32±0.04
24h	4.67	0.67	3.89±0.05
36h	4.35	0.83	4.34±0.04
48h	3.89	0.92	6.78±0.05

Table 2. The pH, titrable acidity, viable cell counts of the fermentation product of soybean extract powder by *Bifidobacterium longum* ATCC 15707

incubation time	<i>B. longum</i> ATCC 15707		
	pH	Titrable acidity (%)	cell counts (1×10^8 CFU/mL)
12h	5.56	0.39	2.01±0.01
24h	4.79	0.71	5.08±0.07
36h	4.48	0.75	2.74±0.04
48h	4.06	0.83	2.27±0.02

2. 유산균수 및 β -glucosidase의 활성도 변화

대두 추출분말에 유산균을 배양하여 37°C에서 발효시키면서 유산균수 및 β -glucosidase변화를 측정한 결과를 Table 1과 Table 2 그리고 Fig. 1에 제시하였다. 배양 중 유산균수의 변화를 측정해본 결과 *Lactobacillus plantarum* KCTC 3108로 발효한 균은 시간이 경과함에 따라 유산균의 수가 증가하는 경향을 나타내었고 48시간에 가장 높게 나타났으며, *Bifidobacterium longum* ATCC 15707로 발효한 균은 24시간에 가장 높게 나타났고 시간이 경과함에 따라 감소하는 경향을 나타내었다.

β -glucosidase는 비배당체의 형성과 이소플라본 배당체의 가수분해에 필요한 촉매작용을 한다고 보고된 바 있다(Esaki H 등 2004). 따라서 이러한 보고를 통해 β -glucosidase의 활성 변화를 확인해 봄으로써 *Lactobacillus plantarum* KCTC 3108로 발효한 균과 *Bifidobacterium longum* ATCC 15707로 발효한 균에서의 비배당체 형태로 전환하는데 효과적인 균주를 선택하는데 활용하고자 하였다. 실험 결과 *Lactobacillus plantarum* KCTC 3108로 발효한 균과 *Bifidobacterium longum* ATCC 15707로 발효한 균 모두 시간이 경과함에 따라 증가하는 경향을 나타내었지만, *Bifidobacterium longum* ATCC 15707로 발효한 균의 경우 36시간에 가장 높은 수치를 나타내었고 36시간 후부터 감소하는 경향을 나타내었다.

유산균이 가장 활발하게 생성된 균은 *Bifidobacterium longum* ATCC 15707로 발효한 균으로 24시간에 유산균

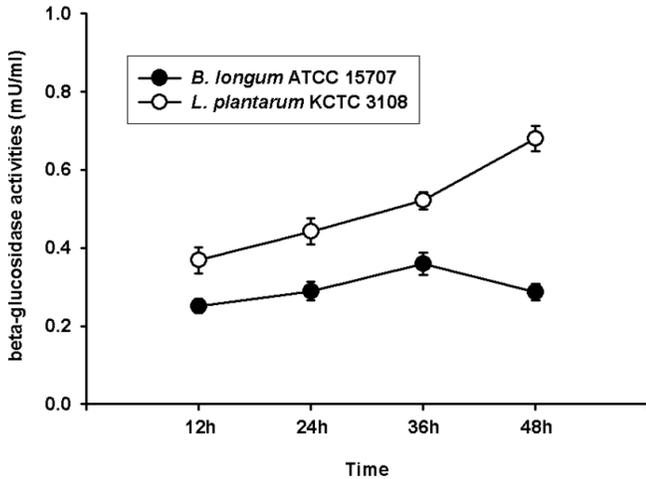


Fig. 1. Changes of β -glucosidase activities during the fermentation of soybean extract with *Lactobacillus plantarum* KCTC 3108 and *Bifidobacterium longum* ATCC 15707.

수가 가장 활발하게 증가하였으며, β -glucosidase는 36시간에 가장 높은 수치를 나타내었다. *Lactobacillus plantarum* KCTC 3108로 발효한 균의 경우 유산균 수와 β -glucosidase 모두 완만하게 증가하는 경향을 나타내었다.

3. Isoflavone의 함량 변화

대두 추출분말에 유산균을 배양하여 37°C에서 발효시키면서 이소플라본의 함량 변화를 측정된 결과는 Table 3, 4에 제시하였다. 대두 추출분말을 *Lactobacillus plantarum* KCTC 3108로 발효시켰을 때 이소플라본 함량의 경시적인 변화는 배당체 형태의 다이드진, 제니스틴, 글리시틴은 서서히 감소하다가 12시간 이후에 급격하게 감소하는 경향을 나타내었고, 가장 높은 수치를 나타낸 배당체는 제니스틴이며 그 다음 순으로 다이드진, 글리시틴으로 나타내었다. 반면 비배당체 형태의 다이드제인, 제니스테인, 글리시테인은 서서히 증가하다가 12시간 이후에 급격하게 증가하는 경향을 나타내었고 시간이 경과함에 따라 서서히 증가하는 경향을 나타내었으며, 제니스테인에서 가장 높은 수치를 나타내었다. 또한 대두 추출분말을 *Bifidobacterium longum* ATCC 15707로 발효시켰을 때 이소플라본 함량의 경시적인 변화는 *Lactobacillus plantarum* KCTC 3108로 발효시켰을 때와 유사한 경향을 나타내었다.

두 균 모두에서 제니스테인의 수치가 가장 높은 것으로 확인됨에 따라, 앞서 서술했던 바와 같이 생리적 활

Table 3. Changes of isoflavone content during the fermentation of soybean extract powder with *Lactobacillus plantarum* KCTC 3108

Isoflavone	Content of isoflavones (mg/100 g)				
	0h	12h	24h	36h	48h
<i>Glucoside</i>					
Daidzin	83.03±2.17	80.02±2.45	11.10±3.18	8.24±2.71	5.34±3.24
Genistin	168.13±8.17	159.16±8.92	9.32±0.42	7.56±0.43	3.79±0.57
Glycitin	20.02±1.07	17.64±1.14	5.37±1.21	3.45±0.97	1.87±1.09
<i>Aglycone</i>					
Daidzein	8.09±0.78	10.78±0.85	79.24±0.71	82.91±0.80	85.76±0.84
Genistein	11.20±0.84	20.12±1.02	167.82±2.19	169.73±2.24	175.87±2.21
Glycitein	4.71±0.46	6.65±0.52	19.53±0.76	20.37±0.84	22.41±0.91

Table 4. Changes of isoflavone content during the fermentation of soybean extract powder with *Bifidobacterium longum* ATCC 15707

Isoflavone	Content of isoflavones (mg/100 g)				
	0h	12h	24h	36h	48h
<i>Glucoside</i>					
Daidzin	83.03±2.17	81.72±2.24	13.21±1.07	7.98±0.69	3.12±0.44
Genistin	168.13±8.17	162.23±8.76	8.43±0.42	6.72±0.67	4.27±0.52
Glycitin	20.02±1.07	18.92±0.94	4.90±0.39	2.91±0.77	1.51±0.37
<i>Aglycone</i>					
Daidzein	8.09±0.78	9.99±0.68	77.39±0.64	84.13±1.07	88.12±0.76
Genistein	11.20±0.84	18.86±0.97	165.11±2.31	171.35±2.50	175.16±2.21
Glycitein	4.71±0.46	6.13±0.71	17.93±0.69	22.16±0.48	22.79±0.56

성이 가장 뛰어난 것으로 알려져 있는 제니스테인의 경우 유산균을 이용한 대두 추출물의 이소플라본 전환에 있어서 다른 이소플라본보다 더 강력하게 암을 억제하는 효과 및 만성 질환의 예방효과를 나타내는데 기여하는 바가 클 것이라 생각된다(Wang HJ와 Murphy PA 1994, Fukutake M 등 1996).

IV. 요약 및 결론

대두 이소플라본은 비배당체인 제니스테인과 다이드제인에 주로 포도당 잔기가 β -glucoside 결합을 하고 있는 배당체인 제니스틴과 다이드진 형태로 존재하기 때문에 체내에 흡수되기 위해서는 장내 균총에 의해 대사된 후 흡수되지만, 체내흡수율이 매우 낮아 이를 보완하기 위해 배당체 형태의 이소플라본을 비배당체 형태로 전환하는 생물전환 공정 기술이 절실히 필요한 상태이다.

두유 발효에 주로 이용되고 있는 장내 유익균인 *Lactobacillus*속과 *Bifidobacterium*속의 유산균을 이용하여 대두 추출분말을 발효시킨 후 이소플라본이 배당체 형태에서 비배당체 형태로 변화하는 정도를 확인하였다. 그 결과 pH 및 산도는 *Lactobacillus plantarum* KCTC 3108로 발효한 균이 *Bifidobacterium longum* ATCC 15707로 발효한 균보다 12시간에서 산도가 낮게 나타나는 경향을 보였지만, 시간이 경과하여 48시간 후에는 두 균주 모두에서 증가하는 경향이였다. 유산균수 및 β -glucosidase의 활성도를 측정해본 결과 유산균이 가장 활발하게 생성된 균은 *Bifidobacterium longum* ATCC 15707로 발효한 균으로 24시간에 유산균 수가 가장 활발하게 증가하였으며, β -glucosidase는 36시간에 가장 높은 수치를 나타내었다. *Lactobacillus plantarum* KCTC 3108로 발효한 균의 경우 유산균 수와 β -glucosidase 모두 시간이 경과함에 따라 완만하게 증가하는 경향을 나타내었다. 이소플라본의 함량의 변화를 측정해본 결과 대두 추출분말을 *Lactobacillus plantarum* KCTC 3108로 발효시켰을 때 이소플라본 함량의 경시적인 변화는 글루코사이드 형태의 다이드진, 제니스틴, 글리시틴은 서서히 감소하다가 12시간 이후에 급격하게 감소하는 경향을 나타내었고 가장 높은 수치를 나타낸 배당체는 제니스틴이었으며, 그 다음 순으로 다이드진, 글리시틴으로 나타내었다. 반면 비배당체 형태의 다이드제인, 제니스테인, 글리시테인은 서서히 증가하다가 12시간 이후 급격하게 증가하였고 시간이 경과함에 따라 증가하는 경향을 나타내었으며 제니스테인이 가장 높은 수치를 나타내었다. 또한 대두 추출분말을 *Bifidobacterium longum* ATCC 15707로 발효 시 이소플라본 함량의 경시적인 변화는 *Lactobacillus plantarum* KCTC 3108로 발효시켰을 때와 유사한 경향을 나타내었다.

대두 추출분말에 유산균을 배양하여 37°C에서 발효시

키면서 관찰한 이상의 결과를 통해 24시간 이후부터 산도 및 유산균 수가 가장 활발하게 증가하였고, 두 균주 모두에서 시간이 경과함에 따라 β -glucosidase의 활성이 증가하면서 글루코사이드 배당체 형태의 다이드진, 제니스틴, 글리시틴은 감소하는 경향을 나타내었으며, 비배당체 형태의 다이드제인, 제니스테인, 글리시테인은 증가하는 경향을 나타내는 것으로 보아 대부분의 배당체가 가수분해 됨에 따라 비배당체 형태로 전환되는 것으로 생각된다.

V. 감사의 글

이 논문은 2008년도 원광대학교 교비 지원에 의해서 수행되었으므로 이에 감사드립니다.

참고문헌

- 이영은, 홍승현. 2003. 한방식품재료학. (주)교문사. 서울. pp 42-44
 정동효. 2005. 대두이소플라본. 신일상사. 서울. pp 3-4, p 65
 AOAC. 1990. Official methods analysis of the association of official analytical chemists 15th ed. The association of official analytical chemists Inc. Virginia. USA.
 Adlercreutz H. 1995. Phytoestrogens: Epidemiology and a possible role in cancer protection. *Environ Health Perspect* 103(7): 103-112
 Anthony MS, Clarkson TB, Williams JK. 1998. Effects of soy isoflavones on atherosclerosis: potential mechanism¹⁻³. *Am J Clin Nutr* 68(6):1390S-1393S
 Choi YB, Woo JG, Noh WS. 1999. Hydrolysis of β -glucosidic bonds of isoflavone conjugates in the lactic acid fermentation of soy milk. *Korean J Food Sci Technol* 31(1):189-195
 Clarkson TB, Anthony MS, Hughes CL, Jr. 1995. Estrogenic soybean isoflavones and chronic disease risks and benefits. *Trends Endocrinol Metab* 6(1):11-16
 Esaki H, Watanabe R, Hishikawa N, Osawa T, Kawakishi S. 2004. Utility of isoflavone preparations from soy sauce cake as antioxidant materials. *J Jpn Soc Food Sci Technol* 51(1): 47-53
 Fukutake M, Takahshi M, Ishida K. 1996. Quantification of genistein and genistin in soybeans and soybean products. *Food Chem Toxicol* 34(5):457-461
 Izumi T, Piskula MK, Osawa S, Obata A, Tobe K, Saito M, Kataoka S, Kubota Y, Kikuchi M. 2000. Soy isoflavone aglycones are absorbed faster and in higher amounts than their glucosides in humans. *J Nutr* 130(7):1695-1699
 Kim JH, Lee BR, Moo YP. 1998. Overproduction and secretion of β -glucosidase in *Bacillus subtilis*. *J Microbiol Biotechnol* 8(2):141-145
 Peterson G, Barnes S. 1991. Genistein inhibition of the growth of

- human breast cancer cells: Independence from estrogen receptors and the multi-drug resistance gene. *Biochem Biophys Res Comm* 179(1):661-667
- Park KB, Oh SH. 2007. Production of yogurt with enhanced levels of gamma-aminobutyric acid and valuable nutrients using lactic acid bacteria and germinated soybean extract. *Biore-source Technol* 98(8):1675-1679
- Setchell KDR, Cassidy A. 1999. Dietary isoflavones: biological effects and relevance to human health. *J Nutr* 129(3):758-767
- Shigemitsu K, Makoto S, Takashi I, Teiji U, Kazuyoshi O. 1991. A new isoflavone glycoside in soybean seed (glycine max merrill), glycitein 7-O-β-D-(6''-O-acetyl)-glucopyranoside. *Agric Biol Chem* 55(3):859-860
- Shimakawa Y, Matsubara S, Yuki N, Ikeda M, Ishikawa F. 2003. Evaluation of bifidobacterium breve strain Yakult-fermented soymilk as a probiotic food. *Int J Food Microbiol.* 81(2): 131-136
- Tsangalis D, Ashton JF, McGill AEJ, Shah NP. 2002. Enzymic transformation of isoflavone phytoestrogens in soymilk by β-glucosidase producing bifidobacteria. *J Food Sci* 67(8): 3104-3113
- Wang HJ, Murphy PA. 1994. Isoflavone content in commercial soybean foods. *J Agric Food Chem* 42(8):1666-1673
- Xu X, Wang HJ, Murphy PA, Cook L, Hendrich S. 1994. Daidzein is a more bioavailable soymilk isoflavone than is genistein in adult woman. *J Nutr* 124(6):825-832
- Yu JH, Lew ID, Park CK, Lim HC. 1988. Lactic acid fermentation in soymilk by single and mixed cultures of lactobacillus casei and kluyveromyces fragilis. *Korean J Food Sci Technol* 20(4):518-525

2010년 3월 19일 접수; 2010년 4월 14일 심사(수정); 2010년 4월 14일 채택