

젖산균 및 효모를 이용한 밀배아로부터 2-Methoxy-1,4-benzoquinone (2-MBQ) 및 2,6-Dimethoxy-1,4-benzoquinone(2,6-DMBQ)의 생산

유종길 · 김명동*

강원대학교 바이오산업공학부

Production of 2-Methoxy-1,4-benzoquinone (2-MBQ) and 2,6-Dimethoxy-1,4-benzoquinone (2,6-DMBQ) from Wheat Germ Using Lactic Acid Bacteria and Yeast

Jong-Gil Yoo and Myoung-Dong Kim*

School of Biotechnology and Bioengineering, Kangwon National University

Abstract

Wheat germ contains the glycosylated forms of 2-methoxy-p-benzoquinone (2-MBQ) and 2,6-dimethoxy-p-benzoquinone (2,6-DMBQ), both of which have antimicrobial and immunostimulatory effects. Conversion of glycosylated 2-MBQ and 2,6-DMBQ to their more functional unglycosylated forms requires enzymatic action of β -glucosidase. We investigated the applications of lactic acid bacteria and yeast that produce β -glucosidase as starters for production of unglycosylated 2-MBQ and 2,6-DMBQ from wheat germ. *Lactobacillus zae* and *Pichia pijperi* were selected through β -glucosidase enzyme assays for 37 yeast strains and five strains of lactic acid bacteria. *Lb. zae* was more efficient than *P. pijperi* at producing 2-MBQ and 2,6-DMBQ from wheat germ. After 48 hr of fermentation with a mixed culture of *Lb. zae* and *P. pijperi*, the concentration of 2-MBQ was 0.46 ± 0.07 mg/g, indicating an approximately 1.6-fold higher concentration than that obtained by pure culture of *Lb. zae*. However, the concentration of 2,6-DMBQ was not significantly enhanced by fermentation with a mixed culture of *Lb. zae* and *P. pijperi*.

Keywords: 2-methoxy-1,4-benzoguinone, 2,6-dimethoxy-1,4-benzoguinone, β -glucosidase, wheat germ, *Lactobacillus zae*

서 론

퀴논화합물 유도체들의 생리활성과 면역증강에 대한 효과는 오래 전부터 문헌에 보고되고 있으며(Szent-Györgyi, 1972; Szent-Györgyi, 1982; Huang et al., 1985; Hidvégi et al., 1999), Fig. 1에 표시된 2-methoxy-1,4-benzoquinone(2-MBQ) 및 2,6-dimethoxy-1,4-benzoquinone(2,6-DMBQ)은 세균, 곰팡이에 대한 생육 저해효과를 나타내며, 악성 종양 세포에 대하여 세포 독성을 나타낸다고 보고되었다(Lana et al., 2006). 이 두 화합물은 밀배아에서 배당체 형태로 존재하는 것으로 보고되었으며(Szent-Györgyi, 1972), 특히 2,6-DMBQ는 다양한 식물의 조직에 존재하고 이 중 음식

으로 섭취되는 것으로는 국화과에 속하는 양상추나 꽃상추, 홍화 등이 있으며 콩과의 대두, 완두와 렌즈콩 등이 있으며 곡물, 블루베리 등이 있다(Handa et al., 1983).

주요 곡물에 함유된 2,6-DMBQ의 함량을 살펴보면 밀배아는 0.1 mg/g, 발효된 밀배아에는 0.2 mg/g, 발아된 밀에는 0.001 mg/g, 보리 배아에는 0.07 mg/g 정도 함유되어 있는 것으로 알려져 있다(Tömösközi-Farkas & Daood, 2004). 현재 효모인 *Saccharomyces cerevisiae*를 이용한 밀배아 발효물이 개발되어 아베마르(Avemar)라는 제품으로 전세계적으로 판매되고 있으며 0.4 mg/g의 농도로 2,6-DMBQ를 함유하는 것으로 알려져 있다(Tömösközi-Farkas & Hidvégi, 1996; Hidvégi et al., 1998; Tömösközi-Farkas et al., 1998).

효모를 이용한 밀배아 발효물의 효능은 암세포의 MHC-I 분자의 합성을 감소시킴으로써 암세포가 NK세포에 의해 공격받아 파괴되도록 유도하며(Fajka-Boja et al., 2002), 직간접적으로 암세포를 공격하는 TNF- α 가 생산되고 이것에 의해 유도된 ICAM-1은 백혈구가 암세포에 도달하는 것을

Corresponding author: Myoung-Dong Kim, School of Biotechnology and Bioengineering, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

Tel: +82-33-250-6458; Fax: +82-33-241-0508

E-mail: mdkim@kangwon.ac.kr

Received September 15, 2010; revised October 14, 2010; accepted October 18, 2010

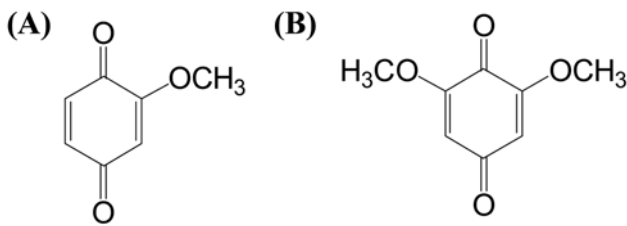


Fig. 1. Chemical structure of 2-MBQ (A) and 2,6-DMBQ (B).

촉진시키며(Telekes et al., 2005), 암세포의 포도당 대사에 영향을 주는 것 등이 보고된 바 있다(Comin-Anduix et al., 2002; Telekes et al., 2009). 밀배아는 밀(*Triticum vulgare*)을 도정할 때 발생하는 부산물로서 밀의 약 2-4%(w/w)를 차지하며, 비타민 E를 비롯한 비타민 복합체가 풍부한 것으로 알려져 있다(Heimbach et al., 2007). 이러한 밀배아에는 2,6-DMBQ가 배당체 형태로 존재하는 것으로 알려져 있는데 발효에 관여하는 효모가 생산하는 β -glucosidase의 작용에 의하여 비배당체로 유리된다고 보고되었다(Szent-Györgyi, 1982).

β -Glucosidase(β -D-glucoside glucohydrolase, EC 3.2.1.21)는 이당류나 다당류 또는 당쇄결합물의 β -1,4 결합을 주로 절단하는 효소로서 생체 내에서 중요한 역할을 담당하고 있다(Baldrian & Valášková, 2008). 지금까지 보고된 β -glucosidase는 다양한 특성을 나타내고 있는데 분자량이 35-640 kDa에 이르며, 식물, 곰팡이, 효모, 세균 및 동물의 조직 등의 세포외부, 세포벽 그리고 세포내부에 존재하는 것으로 알려져 있다(Baldrian & Valášková, 2008). 배당체 형태로 존재하는 대표적인 성분으로서 대두에 존재하는 이소플라본은 대부분 genistin, daidzin과 같은 배당체 형태로 존재하며 결과적으로 높은 친수성을 띄게 되어 체내 장관에서의 흡수율이 낮지만, 대두 발효식품에서는 미생물의 β -glucosidase에 의해 당쇄가 가수분해되어 비배당체 형태로 많이 존재하며 이것은 체내의 흡수가 보다 용이하여 결과적으로 배당체 형태보다 높은 생리활성을 나타내는 것으로 알려져 있다(Miura et al., 2002). *Bifidobacterium* sp. 및 *Lactobacillus* sp. 등의 미생물이 보유하고 있는 β -glucosidase를 생산하여 배당체 이소플라본을 비배당체 이소플라본으로 전환시켜 소화 흡수율을 증진시킨 연구결과가 보고된 바 있다(Champagne et al., 2010; Donkor & Shah, 2007).

Decroos et al.(2005)은 *Lb. mucosae*, *Enterococcus faecium*, *Fingoldia magna*, *Veillonella* sp. 균주의 혼합배양에 의해서 daidzein이 equol으로 생물전환이 되는 반면, 단독배양에서는 daizein이 equol이나 dihydrodaidzein으로 생물전환되지 않는다는 것을 보고하였다.

그밖에 β -glucosidase 활성이 높은 젖산균이나 효모를 스

타터로 사용하여 대두유를 발효하여 생리 활성이 높은 이소플라본의 생성을 촉진하는 연구가 수행되었으며(Pyo et al., 2005; Yu et al., 1987; Yu et al., 1988), β -glucosidase 활성을 나타내는 *Bifidobacteria*와 *Lactobacillus*를 이용하여 anthocyanin의 당쇄결합을 분해함으로써 생리 활성을 나타내는 malvidin과 활성형의 페놀산을 얻은 연구도 보고된 바 있다(Ávila et al., 2009). 또한 인삼 재배 토양으로부터 β -glucosidase 생산 능력을 지닌 미생물을 분리하여 ginsenoside Rb₁을 약리활성을 지닌 ginsenoside Rd로 전환시킨 연구결과가 보고되었다(Kim et al., 2005).

본 연구에서는 비배당체인 2,6-DMBQ 및 2-MBQ를 생산하기 위하여 필요한 β -glucosidase 활성이 높은 효모와 젖산균을 선발하여, 밀배아 발효에 이용하고자 하였다.

재료 및 방법

밀배아

밀배아는 (주)동아원(Seoul, Korea)에서 구입하여 -80°C에 보관하면서 사용하였고 발효 기질로 사용하기 전에 가정용 분쇄기(FM-909T, Hanil, Seoul, Korea)를 이용하여 30초간 분쇄하였다.

균주 및 발효조건

우유를 비롯한 식품으로부터 분리된 효모 및 *Lactobacillus* 젖산균은 한국생명공학연구원 미생물자원센터(The Korean Collection for Type Cultures, KCTC)와 한국 미생물보존센터(Korean Culture Center of Microorganisms, KCCCM)에서 구입하였다. 효모를 배양하기 위하여 YEPD배지(1% yeast extract, 2% peptone, 2% glucose)를 사용하였으며 젖산균은 MRS배지(BD Diagnostic Systems, SPARKS, MD, USA)를 사용하였다. β -Glucosidase 효소생성 유도용 배지는 YEPD와 MRS배지에 함유된 탄소원인 포도당을 2% 농도의 cellobiose(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)로 대체하여 사용하였다. MRS 또는 YEPD 한천 고체배지의 집락 1개를 취하여 5 mL의 전배양배지(MRS 또는 YEPD)에 접종하고 진탕배양기(Hanbaek Scientific Co., Bucheon, Korea)를 이용하여 30°C에서 10시간 배양한 뒤, 600 nm에서 흡광도(OD₆₀₀)를 측정하고 원심분리하여 적정량의 세포를 회수하였다. 회수한 세포는 멸균 증류수로 2회 세척한 후 cellobiose가 2%(w/v)의 농도로 첨가된 MRS 또는 YEPD 배지에 초기 흡광도(OD₆₀₀)가 0.1이 되도록 접종한 후, 진탕배양기를 이용하여 흡광도(OD₆₀₀)가 1이 될 때까지 30°C에서 배양하였고, 배양액을 원심분리하여 건조중량 1g에 해당하는 세포를 회수하고 멸균 증류수로 2회 세척한 후 2-MBQ 및 2,6-DMBQ의 생산을 위한 발효에 사용하였다.

회수한 효모 및 젖산균은 600 mL의 멸균증류수에 현탁시

키고 분쇄한 밀배아 분말(60 g)을 주입하고 진탕배양기를 이용하여 30°C에서 발효하였다. 발효가 완료되면 원심분리(16,110 ×g, 10 min)하여 상등액을 취하여 0.45 µm 여과지(Advantec, Tokyo, Japan)로 여과하고 동결건조(Ilshin Engineering Co., Seoul, Korea)한 후 -80°C에 보관하였다.

세포의 β-glucosidase 활성 측정

β-Glucosidase 효소활성은 Hong et al.(2009)의 방법을 일부 변형하여 수행하였다. 세포가 제거된 상등액을 조효소액으로 이용하였고, *p*-nitrophenol 용액(Sigma-Aldrich)을 여러 농도로 희석한 뒤 410 nm에서의 흡광도를 측정하여 검량선을 작성하였다. 기질은 sodium acetate 완충액(500 mM, pH 4.5)에 *p*-nitrophenyl-β-D-glucoopyranoside (pNPG, Sigma-Aldrich)의 농도가 33 mM이 되도록 용해시킨 후, 16 µL의 조효소액에 기질용액을 48 µL 첨가하여 30°C에서 30분 동안 반응시켰다. 효소반응은 136 µL의 1 M Na₂CO₃(Duksan, Ansan, Korea)를 주입하여 종결시켰다. 생성된 *p*-nitrophenol 농도는 410 nm에서 흡광도를 측정하고 미리 구한 검량선을 이용하여 결정하였다. 1 unit의 효소활성은 30°C, pH 4.5 조건에서 1분 동안 1 µmole의 *p*-nitrophenol을 생성하는 효소의 양으로 정의하였다.

단백질 정량

Bradford Dye Reagent(Bio-Rad, Hercules, CA, USA)를 이용하여 제조사가 제시한 조건에서 단백질 농도를 측정하였으며, 적정농도로 희석된 bovine serum albumin(BSA, Bio-Rad)을 이용하여 표준선을 작성하였다.

2-MBQ 및 2,6-DMBQ 정량 분석

밀배아 발효물 중의 2-MBQ 및 2,6-DMBQ의 함량은 Tömösközi-Farkas & Daood(2004)의 방법을 변형하여 측정하였다. 동결건조물 1 g을 증류수 50 mL에 용해시킨 후 100 mL의 클로로포름(SK Chemical, Ulsan, Korea)을 이용하여 3회 분획하였다. 분획물을 감압 농축기(EYELA, Tokyo, Japan)를 이용하여 40°C에서 농축하여 고형분을 얻은 후 20 mL의 HPLC(high-pressure liquid chromatography) 이동상(25 mM KH₂PO₄:acetonitrile = 9:1, pH 4.8)으로 용해시키고 0.45 µm 주사기형 여과지(Minisart RC4, Sartorius Stedim Biotec GmbH, Goettingen, Germany)로 여과한 후 HPLC(LC-20A, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 이용하여 분석하였다. 분석용 컬럼은 RP-Amide C16(250×4.6 mm, Supelco Inc., Bellefonte, PA, USA)였으며 이동상은 25 mM KH₂PO₄(pH 4.8)와 acetonitrile을 9:1(v/v)의 비율로 혼합한 것을 사용하였다. 이동상의 유속은 0.7 mL/min으로 설정하였고 컬럼의 온도는 70°C를 유지하였으며, 자외선 검출기(SPD-20A, Shimadzu, Japan)를 이용하였다. 상업적으로 판매되는 2-MBQ와 2,6-DMBQ(TCI Chemicals, Tokyo,

Japan)를 표준물질로 사용하였다.

2-MBQ 및 2,6-DMBQ 정성 분석

LC/MS(liquid chromatography-mass spectrometry) 분석은 Thermo Finnigan TSQ Quantum Ultra(Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)를 이용하여 실시하였다. 컬럼은 hydrosphere C18(150×2.0 mm, YMC Co., Kyoto, Japan)을 사용하였고 이동상으로 1 mM의 formic acid를 함유하는 24%(v/v) methanol을 0.2 mL/min의 유속으로 설정하고 20 µL의 시료를 주입하였다. 검출을 위한 MS 분석조건으로 ESI(electrospray ionization) 이온화 방식을 사용하였다.

통계분석

모든 측정은 3회 이상 반복하였으며 결과의 통계적 분석은 Sigma Plot(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 평균값과 표준오차를 구하였다.

결과 및 고찰

세포의 β-glucosidase 활성

효모 37개 균주와 *Lactobacillus* 젖산균 5개 균주에 대하여 세포의 β-glucosidase 효소활성을 탐색하였다. 본 연구에 사용된 효모 균주는 대부분이 0.01 unit/mg protein 이하의 낮은 β-glucosidase 효소활성을 나타내었으며 *Pichia anomala*와 *P. jipperi* 균주가 각각 0.019±0.002, 0.02 ±0.002 unit/mg protein으로 다른 효모 균주와 비교하여 상대적으로 높은 효소활성을 나타내었다(Fig. 2A). *Lactobacillus* 5개 균주 중에서는 *Lb. zaeae*의 세포의 β-glucosidase 효소활성이 0.018±0.001 unit/mg protein으로 다른 균주에 비해 상대적으로 높게 나타났다(Fig. 2B). 효소활성 탐색을 통하여 선정된 *P. jipperi* 및 *Lb. zaeae* 균주를 밀배아 발효를 통한 2-MBQ 및 2,6-DMBQ 생산을 위하여 사용하였다. 본 연구에서 사용한 균주 이외의 보다 많은 균주를 대상으로 β-glucosidase 활성을 탐색하고, 이를 이용하여 2-MBQ 및 2,6-DMBQ를 생산하는 연구가 필요할 것으로 사료된다.

2-MBQ와 2,6-DMBQ의 정량, 정성 분석

표준물질인 2-MBQ와 2,6-DMBQ를 HPLC를 이용하여 분석한 결과 머무름 시간은 각각 6.8분 및 7.9분이었으며 젖산균과 효모를 각각 단독으로 밀배아를 발효했을 때와 젖산균과 효모를 동시에 사용하여 밀배아를 36시간 동안 발효했을 때 시료 중의 2-MBQ 및 2,6-DMBQ의 함량을 분석한 결과, 표준물질과 동일한 머무름 시간에서 피크가 검출되었으며(Fig. 3), 밀배아 발효물을 LC-MS를 이용하여 분석한 결과, 표준물질과 동일한 머무름 시간과, 동일한 m/z 138.92(2-MBQ) 및 m/z 168.9(2,6-DMBQ) 피크가 확

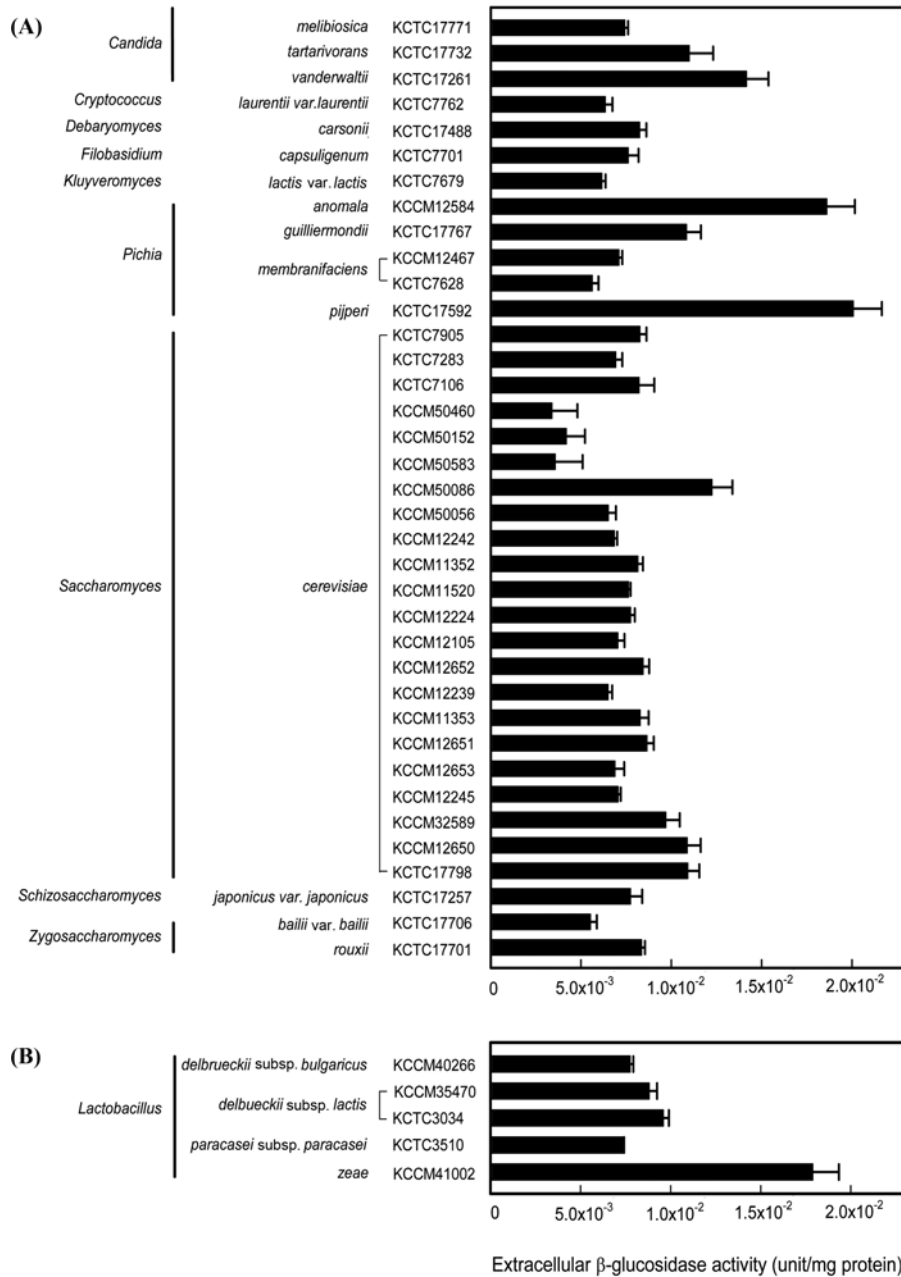


Fig. 2. Extracellular β-glucosidase activity of yeast (A) and lactic acid bacteria (B) used in this study. Averages and standard errors from five independent experiments were determined and shown.

인되어, 밀배아의 발효를 통하여 2-MBQ 및 2,6-DMBQ가 생성된 것을 확인하였다(Fig. 4).

효모와 젖산균을 이용한 밀배아 발효

P. pijperi 균주를 이용하여 밀배아를 36시간 및 48시간 동안 발효한 경우 2-MBQ는 거의 생성이 되지 않았으며, 2,6-DMBQ는 발효 개시 후 36시간과 48시간이 경과한 후 각각 0.02±0.01 및 0.02±0.001 mg/g의 농도로 생성되어 효모만을 발효균으로 사용하였을 때 발효시간의 경과에 따른

2,6-DMBQ 생성량의 차이는 크지 않았다(Table 1).

그러나, 젖산균인 *Lb. zeae* 균주를 단독으로 사용한 경우는 발효시간이 36시간과 48시간이 경과한 후 2-MBQ 농도가 0.21±0.02 mg/g에서 0.28±0.06 mg/g으로 증가하였으며 발효시간의 경과에 따른 2,6-DMBQ 생성량은 큰 차이를 보이지 않았지만 효모를 단독으로 사용한 경우와 비교하면 2,6-DMBQ의 생성량이 12배 정도 증가된 값을 나타내었다. 또한 효모를 단독으로 사용하여 발효한 경우는 2-MBQ가 거의 생성되지 않았지만 젖산균인 *Lb. zeae*를 사용한 경우

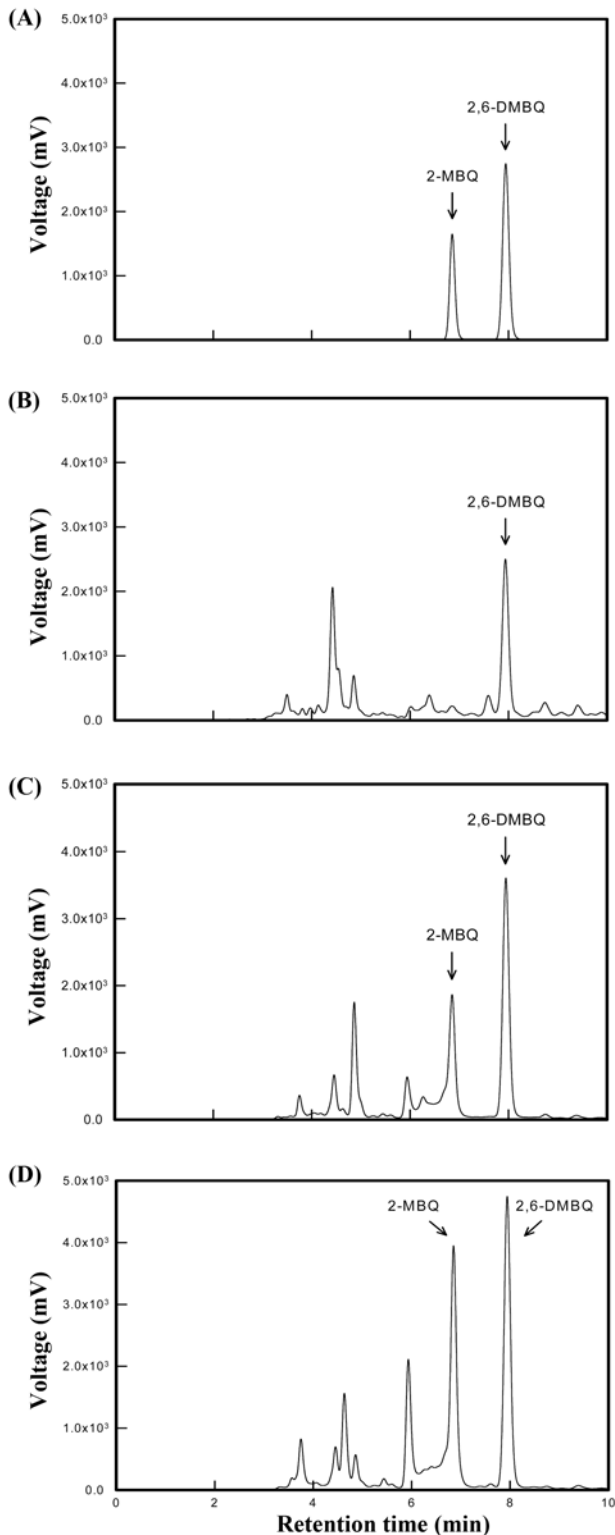


Fig. 3. HPLC chromatograms for mixture of commercially available 2-MBQ and 2,6-DMBQ (A), sample from wheat germ fermentation by *P. jipperi* (B), sample from wheat germ fermentation by *Lb. zae* (C), and sample from wheat germ fermentation by mixed culture of *P. jipperi* and *Lb. zae* (D).

는 발효 48시간 후에 2-MBQ가 0.28 ± 0.06 mg/g 농도로 생성된 것은 젖산균이 보유하고 있는 β -glucosidase 효소활성이 밀배아로부터 비배당체인 2,6-DMBQ 및 2-MBQ를 생산하는데 중요한 역할을 하기 때문인 것으로 추정되었다. 또한 pNPG를 기질로 사용하였을 때 효모인 *P. jipperi*와 젖산균인 *Lb. zae*는 비슷한 수준의 β -glucosidase 활성을 나타내었지만 배당체 형태의 2-MBQ 및 2,6-DMBQ에 대한 효소 활성도는 큰 차이를 보일 것으로 추정되어 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

효모와 젖산균을 동시에 사용하여 밀배아로부터 2-MBQ 및 2,6-DMBQ를 생산하는 연구를 진행하였다. 발효 개시 후 36시간이 경과한 후 2,6-DMBQ의 생성량은 효모 및 젖산균을 각각 단독으로 사용한 경우와 비교하여 유의적인 차이를 나타내지 않았지만 2-MBQ의 농도는 젖산균인 *Lb. zae*를 사용한 경우와 비교하여 약 85% 정도 증가한 0.39 ± 0.06 mg/g를 나타내었다. 또한 발효 개시 후 48시간이 경과하면 2-MBQ의 생성량은 더욱 증가하여 0.46 ± 0.07 mg/g에 이르렀고, 이는 동일한 발효시간에 대하여 젖산균만을 사용한 결과와 비교하여 2-MBQ의 생성량이 64% 증가한 결과이다. 이러한 결과를 근거로 효모와 젖산균을 동시에 사용하는 경우에 각 균주를 단독으로 사용한 것과 비교하여 2-MBQ를 생산하는데 상승효과가 있음을 알 수 있었다. 그러나 2,6-DMBQ의 생성량은 효모와 젖산균을 병용하여도 젖산균을 단독으로 사용한 경우와 비교하여 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

효모는 일반적으로 젖산균에 유익한 영양 성분을 배출하는 것으로 알려져 있으며(Gobbetti et al., 1994), 특정한 효모와 젖산균은 상호작용에 의해 젖산균의 안정성을 향상시킬 수 있다는 연구 결과가 보고된 바 있다(Arifi et al., 2004; Liu & Tsao, 2009). 또한 효모를 유산균과 동시에 배양했을 때, 유산균의 낮은 산 내성에 의한 낮은 생존력이 유기산을 대사하는 효모에 의해서 향상될 수 있다는 연구 결과도 보고되었다(Rekha & Vijayalakshmi, 2010). 본 연구에서도 주발효균인 *Lb. zae*의 안정성이 *P. jipperi*와 상호작용에 의해서 유지되면서 생리활성 물질인 2-MBQ와 2,6-DMBQ의 증가된 생산성을 가져온 것으로 추측된다.

요 약

본 연구에서는 세포의 β -glucosidase를 생산하는 효모 37개 균주와 *Lactobacillus* 젖산균 5개 균주 중에서 세포의 β -glucosidase 효소활성이 우수한 *Lactobacillus zae*와 *Pichia jipperi*를 선발하였고, 2-MBQ와 2,6-DMBQ 생산을 위한 밀배아 발효의 스타터로 사용하였다. *P. jipperi* 균주만을 이용하여 밀배아를 발효한 경우 2-MBQ는 거의 생성

젖산균 및 효모를 이용한 밀배아로부터 2-Methoxy-1,4-benzoquinone (2-MBQ) 및 2,6-Dimethoxy-1,4-benzoquinone (2,6-DMBQ)의 생산

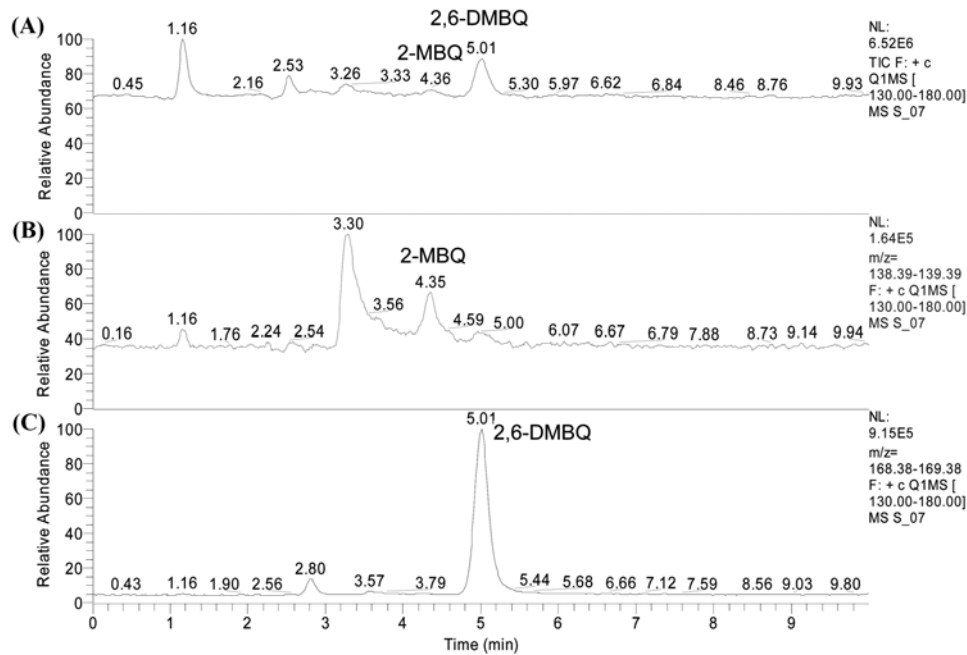


Fig. 4. Total ion chromatograms of mixture of pure 2-MBQ and 2,6-DMBQ (A), 2-MBQ (B), and 2,6-DMBQ (C) in fermented with mixed culture of *Lb. zeae* and *P. pijperi* for 36 hr.

Table 1. Contents of 2-MBQ and 2,6-DMBQ in fermented wheat germ by pure or mixed culture fermentations of *Lb. zeae* and *P. pijperi*

Culture	Fermentation time (hr)	2-MBQ (mg/g)	2,6-DMBQ (mg/g)
-	36	ND*	ND*
	48	ND*	ND*
<i>P. pijperi</i>	36	ND*	0.02±0.01
	48	ND*	0.02±0.001
<i>Lb. zeae</i>	36	0.21±0.02	0.26±0.01
	48	0.28±0.06	0.25±0.01
<i>Lb. zeae</i> + <i>P. pijperi</i>	0	ND*	ND*
	12	ND*	0.043±0.01
	24	0.33±0.01	0.25 ±0.01
	36	0.39±0.06	0.26 ±0.01
	48	0.46±0.07	0.29 ±0.02

*Not detected

되지 않았으며, 2,6-DMBQ는 발효 개시 후 36시간과 48시간이 경과한 후 각각 0.02±0.01 mg/g 및 0.02±0.001 mg/g의 농도로 생성되었고 *Lb. zeae* 균주만을 이용하여 밀배아를 발효한 경우에는 발효개시 후 36시간과 48시간이 경과한 후 2-MBQ는 0.21±0.02 mg/g에서 0.28±0.06 mg/g으로 증가하였고 2,6-DMBQ 생성량의 유의적인 차이는 없었다. 효모와 젖산균을 동시에 사용하여 밀배아를 발효했을 때에는 발효 개시 후 36시간이 경과한 후 2,6-DMBQ의 생성량은 효모 및 젖산균을 단독으로 사용한 경우와 비교하여 유

의적인 차이를 나타내지 않았지만 2-MBQ의 농도는 0.39±0.06 mg/g을 나타내었으며 발효 48시간이 경과하면 더욱 증가하여 0.46±0.07 mg/g을 나타내었다. 이러한 결과는 젖산균인 *Lb. zeae* 균주가 효모인 *P. pijperi*보다 상대적으로 2-MBQ 및 2,6-DMBQ를 생산하는데 중요한 역할을 하며, 두 균주를 동시에 사용하면 각 균주를 단독으로 사용한 경우와 비교하여 2-MBQ 및 2,6-DMBQ를 생산하는데 상승 효과가 있음을 알 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 중소기업기술혁신개발사업(과제번호: S1035 545) 및 지식경제부 지역연계기술개발사업(과제번호: 7000 4487)의 지원으로 수행되었습니다.

참고문헌

- Arfi K, Leclercq-Perlat MN, Baucher A, Tache R, Delettre J, Bonnarne P. 2004. Contribution of several cheese-ripening microbial associations to aroma compound production. *Lait* 84: 435-447.
- Ávila M, Hidalgo M, Sánchez-Moreno C, Pelaez C. 2009. Bioconversion of anthocyanin glycosides by *Bifidobacteria* and *Lactobacillus*. *Food Res. Int.* 42: 1453-1641.
- Baldrian P, Valášková 2008. Degradation of cellulose by basidiomycetous fungi. *FEMS Microbiol. Rev.* 32: 501-521.
- Champagne CP, Tompkins TA, Buckley ND, Green-Johnson JM. 2010. Effect of fermentation by pure and mixed cultures of

- Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus helveticus* on isoflavone and B-vitamin content of a fermented soy beverage. *Food Microbiol.* 27: 968-972.
- Comin-Anduix B, Boros LG, Marin S, Boren J, Callol-Massot C, Centelles JJ, Torres JL, Agell N, Bassilian S, Cascante M. 2002. Fermented wheat germ extract inhibits glycolysis/pentose cycle enzymes and induces apoptosis through poly (ADP-ribose) polymerase activation in Jurkat T-cell leukemia tumor cells. *J. Biol. Chem.* 277: 46408-46414.
- Decroos K, Vanhemmens S, Cattoir S, Boon N, Verstraete W. 2005. Isolation and characterization of an equol-producing mixed microbial culture from a human faecal sample and its activity under gastrointestinal conditions. *Arch. Microbiol.* 183: 45-55.
- Donkor ON, Shah NP. 2008. Production of β -glucosidase and hydrolysis of isoflavone phytoestrogens by *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis*, and *Lactobacillus casei* in soymilk. *J. Food Sci.* 73: 15-20.
- Fajka-Boja R, Hidvégi M, Shoenfeld Y, Ion G, Demydenko D, Tömösközi-Farkas R, Vizler C, Telekes A, Resetar Á, Monostori É. 2002. Fermented wheat germ extract induces apoptosis and downregulation of major histocompatibility complex class I proteins in tumor T and B cell lines. *Int. J. Oncol.* 20: 563-570.
- Gobbetti M, Corsetti A, Rossi J. 1994. The sourdough microflora. Interactions between lactic acid bacteria and yeasts: metabolism of amino acids. *World J. Microb. Biot.* 10: 275-279.
- Handa SS, Kinghorn AD, Cordell GA, Farnsworth NR. 1983. Plant anticancer agents. XXVI. Constituents of *Peddiea fischeri*. *J. Nat. Prod.* 46: 248-250.
- Heimbach JT, Sebestyen G, Semjen G, Kennepohl E. 2007. Safety studies regarding a standardized extract of fermented wheat germ. *Int. J. Toxicol.* 26: 253-259.
- Hidvégi M, Rásó E, Tömösközi-Farkas R, Paku S, Lapis K, Szende B. 1998. Effect of avemar and avemar + vitamin C on tumor growth and metastasis in experimental animals. *Anticancer Res.* 18: 2353-2358.
- Hidvégi M, Rásó E, Tömösközi-Farkas R, Szende B, Paku S, Prnai L, Bocci J, Lapis K. 1999. MSC, a new benzoquinone-containing natural product with antimetastatic effect. *Cancer Biother. Radiopharm.* 14: 277-288.
- Hong SW, You LK, Jung BM, Kim SW, Chung KS. 2009. Characterization of α -galactosidase and β -glucosidase by *Weissella cibaria*. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* 37: 204-212.
- Huang JX, Bouvier ESP, Stuart JD, Melander WR, Horvth CS. 1985. High-performance liquid chromatography of substituted p-hydroquinones and p-hydroquinone. *J. Chromatogr.* 330: 181-192.
- Kim MK, Lee JW, Lee JW, Lee KY, Yang DK. 2005. Microbial conversion of major ginsenoside Rb₁ to pharmaceutically active minor ginsenoside Rd. *J. Microbiol.* 43: 456-462.
- Lana EJ, Carazza F, Takahashi JA. 2006. Antibacterial evaluation of 1,4-benzoquinone derivatives. *J. Agric. Food Chem.* 54: 2053-2056.
- Liu SQ, Tsao M. 2009. Enhancement of survival of probiotic and non-probiotic lactic acid bacteria by yeasts in fermented milk under non-refrigerated conditions. *Int. J. Food Microbiol.* 135: 34-38.
- Miura T, Yuan L, Sun B, Fujii H, Yoshida M, Wakame K, Kosuna K. 2002. Isoflavone aglycone produced by culture of soybean extracts with *Basidiomycetes* and its anti-angiogenic activity. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 66: 2626-2631.
- Pyo YH, Lee TC, Lee YC. 2005. Enrichment of bioactive isoflavones in soymilk fermented with β -glucosidase-producing lactic acid bacteria. *Food Res. Int.* 38: 551-539.
- Rekha CR, Vijayalakshmi G. 2010. Bioconversion of isoflavone glycosides to aglycones, mineral bioavailability and vitamin B complex in fermented soymilk by probiotic bacteria and yeast. *J. Appl. Microbiol.* 109: 1198-1208.
- Szent-Györgyi A. 1972. The living state, with observations on cancer. Academic Press, New York, p. 71.
- Szent-Györgyi A. 1982. Biological oxidation and cancer. *Int. J. Quantum Chem.* 22: 27-30.
- Telekes A, Hegedus M, Chae CH, Vekey K. 2009. Avemar (wheat germ extract) in cancer prevention and treatment. *Nutr. Cancer* 61: 891-899.
- Telekes A, Kiss-Tóth E, Nagy T, Qvarnstrom EE, Ksz E, Polgár T, Resetr A, Dower SK, Duda E. 2005. Synergistic effect of Avemar on proinflammatory cytokine production and ras-mediated cell activation. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1051: 515-528.
- Tömösközi-Farkas R, Daood HG. 2004. Modification of chromatographic method for the determination of benzoquinones in cereal products. *Chromatographia* 60: 227-230.
- Tömösközi-Farkas R, Hidvégi M. 1996. Liquid chromatographic determination of substituted p-benzo and hydroquinones in tree sample. *J. Hung. Chem.* 102: 320.
- Tömösközi-Farkas R, Hidvégi M, Lásztity R. 1998. Investigation of 2,6-dimethoxy-benzoquinone in eight tree species grown in Hungary. *Acta Biol. Hung.* 49: 79.
- Yu JH, Lew ID, Park CK, Kong IS. 1987. Lactic acid fermentation of soymilk by mixed cultures of *Lactobacillus acidophilus* and *Kluyveromyces fragilis*. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.* 15: 162-169.
- Yu JH, Oh DH, Kong IS, Park YS, Lim HC. 1988. Study on mixed cultures of *Lactobacillus acidophilus* and *Saccharomyces cerevisiae* in soymilk. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.* 16: 131-135.