

大豆發芽 중 脂質代謝에 관한 연구

(第 2 報) Lipoxygenase activity 및 脂肪酸의 변화에 관하여

辛 孝 善

東國大學校 食品工學科

(1974년 7월 29일 수리)

Studies on the Lipid Metabolism of Soybean during its Germination

(Part 2) Changes on lipoxygenase activity and fatty acid
composition in soybean during germination

Hyo Sun, Shin

Department of Food Technology, College of Engineering

(Dongguk University Received July, 29, 1974)

Summary

The Merit variety of soybean (*Glycine max* L.), harvested in 1971 was germinated in the dark at 21~25°C for 10 days. The soybean sprout were divided into cotyledons and seedling axis and subjected to the determination of lipoxygenase activity and fatty acid composition of triglycerides, free fatty acids, phospholipids and crude fat fractions at two-day intervals during the germination periods.

The results are summarized as follows :

1) The lipoxygenase activity in cotyledons declined sharply after second day, but the activity in seedling axis inclined slightly after second day. However, the decrease of lipoxygenase activity in cotyledons coincided with decrease of linoleic and linolenic acids in cotyledons and increase of lipoxygenase activity in seedling axis coincided with increase of those acids in seedling axis.

2) The iodine value of neutral fat in cotyledons decreased continuously, but the iodine value of the neutral fat in seedling axis remained almost constant. Iodine value in cotyledons was greater than in seedling axis.

3) In the fatty acid composition of triglycerides in cotyledons, palmitic acid did not changes significantly, stearic acid increased continuously, oleic acid changed irregularly, linoleic and linolenic acids continuously decreased significantly.

But in the fatty acid composition of triglycerides in seedling axis, palmitic acid remained unchanged, linoleic and linolenic acids slightly increased continuously, stearic and oleic acids changed irregularly.

4) Composition of free fatty acids in cotyledons and seedling axis changed irregularly.

suggesting that all fatty acids produced by hydrolysis of triglycerides by lipase are used for either biosynthetic purpose or energy production at random.

5) Fatty acids with odd-numbered carbon chain were not detected in the triglycerides and free fatty acid fractions during the germination periods, suggesting that all fatty acids are utilized as C₂-unit in degradation and biosynthesis.

6) The changes of fatty acids composition of phospholipid in cotyledons and seedling axis during the germination were similar to those of triglyceride fraction.

結 論

前報⁽¹⁾에서 필자는 大豆발아 중 子葉部와 胚軸部の 脂質성분의 변화에 대하여 비교 보고하였다. 脂肪酸은 동·식물체의 脂質代謝과정에서 중요한 역할을 하므로 지방산의 변화를 관찰함은 大豆발아 중의 脂質代謝를 究明하는데 좋은 참고가 되며 또한 흥미있는 일이라 생각된다. 대두발아 중 지방산의 변화에 대하여는 몇가지 연구보문이 발표되고 있다. 즉 Eyster⁽²⁾는 대두발아 중 지방의 요오드값은 변화가 없다고 하였으나 Holman⁽³⁾은 요오드값은 발아 초에는 거의 변화가 없으나 6일 후부터는 급속히 감소되며 linoleic과 linolenic acid의 함량도 요오드값과 함께 감소한다고 하였다. 이에 대하여 Brown⁽⁴⁾ 등은 linoleic acid는 발아 8일 후부터 증가되나 linoleic acid는 거의 변화에 없으며 oleic acid는 6일 후부터 증가하다가 12일 후부터는 급속히 감소된다고 하였다. 그러나 Singh⁽⁵⁾ 등은 대두발아 중 지방산의 변화는 有意性이 없으며 각종 지방산은 無作爲하게 이용된다고 하였다. 이와같이 대두발아 중 지방산의 변화에 관한 연구는 보고자에 따라 매우 相反된 결과를 발표하고 있으며 또한 代謝과정도 다른 子葉部와 胚軸部에서의 지방산의 변화를 비교한 報文은 찾아볼 수 없었다. 그리하여 필자는 대두발아 중 子葉部와 胚軸部の triglyceride, free fatty acid, phospholipid 및 粗脂肪의 구성 지방산의 변화를 정량함과 함께 lipoxygenase activity의 변화를 조사하여 몇가지 결론을 얻었기 이에 보고하는 바이다.

實驗材料 및 方法

1. 材 料

前報⁽¹⁾와 동일한 것을 사용하였다.

2. 方 法

(1) **Lipoxygenase activity:** n-pentane⁽³⁾으로 추출하고 남은 殘渣의 분말 100mg에 1/15M Na₂HPO₄ 용액 100ml을 가하여 homogenize하고 원심 분리(2,500 r.p.m., 15min)한 후 그 상정액에 대

하여 Theorell의 방법⁽⁶⁾으로 그 activity를 Beckman DB-G spectrophotometer에 의하여 234 m μ 에서 吸光度를 측정하였다. substrate는 0.5ml의 Tween 20 (미국 General Aniline & Corporation 社製)을 borate buffer(pH 9.0) 10ml와 linoleic acid 0.5ml에 용해시켜 혼합한것에 1N NaOH 1.3ml을 가하여 투명하게 된 액에 borate buffer 90ml을 가한 후 증류수 200ml로 희석한것을 사용하였다. 그리고 lipoxygenase activity 1 unit는 234m μ 에서 0.1 吸光度의 증가를 나타내는 것으로 정의하였고 脂肪 추출殘渣의 乾物 mg 당 unit로 표시하였다.

(2) **Triglyceride, Free fatty acid 및 Phospholipid fraction의 分別:** 각 시료에서 분리한 粗脂肪은 Fig. 1과 같은 방법에 의하여 처리한 Florisil로 column chromatography⁽⁷⁾에 의하여 triglyceride, free fatty acid 및 phospholipid fraction을 각각 분리하였다. 즉 Florisil과 Skellysolve B (E. Merk 社製)를 packing한 column(內徑 1.2cm, 길이 20cm)에 시료를 넣은 후 diethyl ether-n-hexane 15:85 (v/v)⁽⁸⁾로 elution하여 triglyceride fraction을 얻었고 acetic acid—diethyl ether=4:96(v/v)⁽⁹⁾로 elution하여 free fatty acid fraction을, methanol-chloroform 15:85 (v/v)⁽¹⁰⁾로 elution하여 phospholipid fraction을 각각 분리하였다. 이와같이 분리한 fraction을 TLC에 의하여 재확인 하였으며 각 fraction의 용매는 질소기류하에서 rotary vacuum evaporator로 제거한 후 지방산의 분석시료로 하였다.

(3) **脂肪酸의 분석:** column chromatography에 의하여 분리한 脂質 중에서 triglyceride는 0.5N sodium methoxide로 transesterification⁽¹¹⁾ 하고, free fatty acid 및 粗脂肪은 BF₃-methanol로 ester化⁽¹²⁾ 하고, phospholipid는 BF₃-methanol로 transesterification⁽¹³⁾에 의하여 얻은 각 지방산의 methyl ester를 gas liquid chromatography (GLC)에 의하여 Table 1과 같은 조건하에서 분리 정량하였다. 그리고 relative retention volume 및 retention time은 既知濃度の 표준지방산 ester (일본 東京化

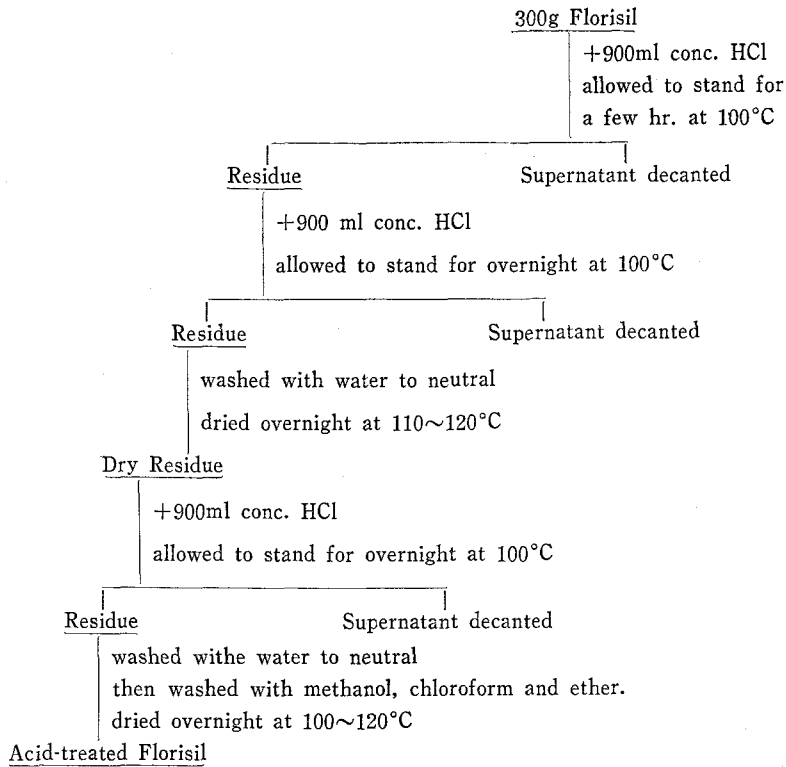


Fig. 1. Procedure for the preparation of acid-treated Florisil.

Table 1. Instrument and operating conditions for gas-liquid chromatography

Instrument	Beckman GC-5
Detector	Flame ionization detector
Column	2.1×3.0mm i.d., stainless steel
Support	Chromosorb W, 60-80 mesh
Substrate	DEGS 5%
Column temp. (°C)	Initial 55, Final 220
Programmed rate (°C per min)	10
Inlet temp. (°C)	200
Line temp. (°C)	230
Helium flow (ml per min)	40
Record chart speed (mm per min)	1.0

學工業社製)의 peak 와 시료의 peak 를 서로 대조하여 각 지방산을 확인하였으며 각 chromatogram 의 면적은 半值幅法에 의하여 계산하였다.

(4) 요오드값 (iodine value) : 각 시료 유지의 요오드값은 Wijs 법⁽¹⁴⁾에 의하여 측정하였다.

實驗結果 및 考察

1. Lipoxygenase activity 의 변화

대두발아 중 子葉部 및 胚軸部의 lipoxygenase

activity 의 변화를 보면 Fig. 2 와 같다.

즉 子葉部의 lipoxygenase activity 의 변화는 발아 2 일째에 최고에 달하였다가 그 후 부터는 계속적으로 급속히 감소된데 반하여 胚軸部에서는 2 일째에 최저에 달하였다가 그 후 부터는 서서히 증가되었다. 그리고 그 증감의 변화는 子葉部에서 triglyceride 의 함량이 계속 감소됨에 따라(前報⁽¹⁾ Table 3 참조) lipoxygenase activity 도 함께 감소되었으며 胚軸部에서는 triglyceride 가 미량씩의

증감이 있었음에도 lipoxygenase activity는 서서히 증가된 것은 흥미있는 현상이다. 그리고 발아전의 시료대두에서 lipoxygenase activity가 높은 것은 lipoxygenase가 inactive form으로 저장되어 있거나 substrate로부터 분리되어 존재하기 때문인 것으로 추측된다. 또한 발아초기에 lipoxygenase activity가 최고에 달한것은 대두가 물을 흡수하여 효소와 substrate를 결합하여 줌으로써 그 작용이 開始¹⁸⁾됨에 따라 activity가 최고에 달하며 그 후 계속 감소되는 것은 발아중 子葉部에서 linoleic 및 linolenic acid와 같은 substrate가 감소됨에 따라 함께 감소되는 것으로 추측된다.

2. 脂肪酸의 변화

(1) Triglyceride의 구성지방산

표준지방산의 methyl ester의 gas liquid chromatogram은 Fig. 3과 같다. 그리고 대두발아중 子葉部에서 추출한 triglyceride fraction의 요오드 값 및 구성지방산의 변화를 GLC로 분석한 결과

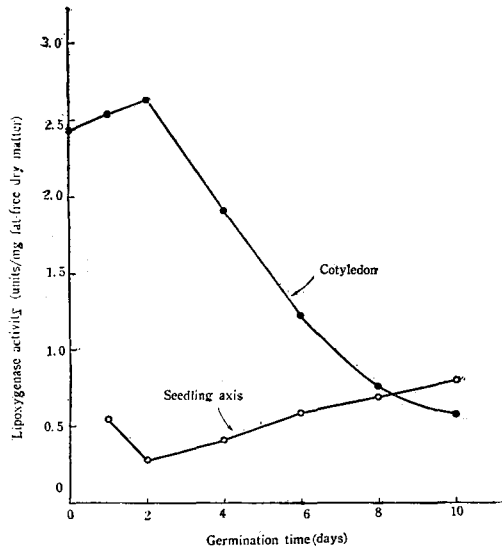


Fig. 2. Changes of lipoxygenase activity in the cotyledon and seedling axis of soybeans germinated in the dark.

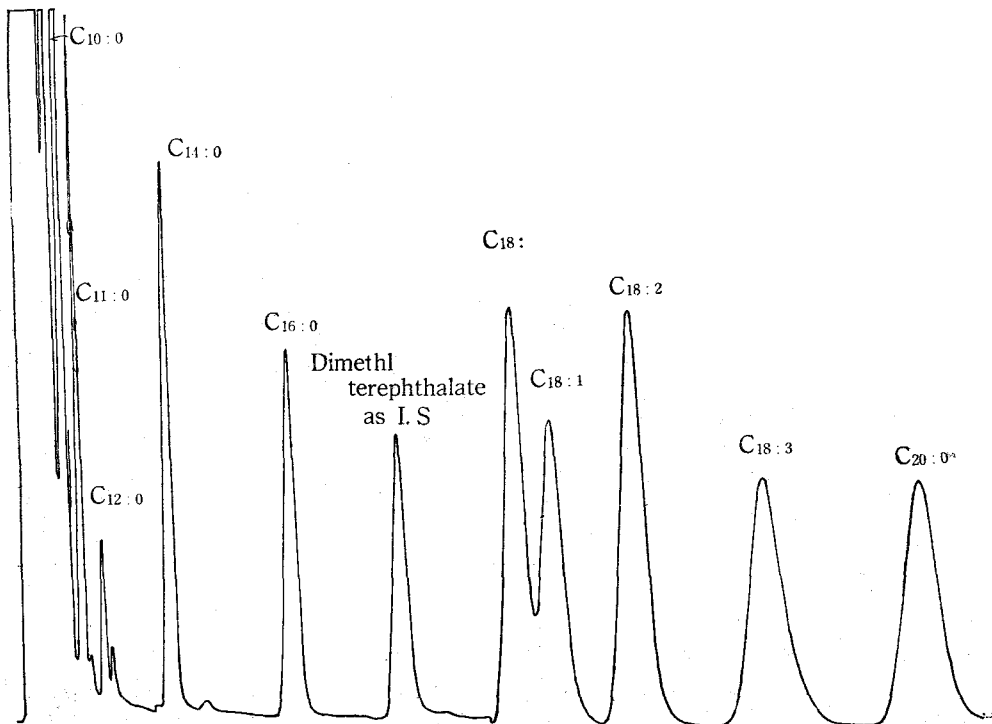


Fig. 3. Gas liquid chromatogram of standard methyl esters of fatty acids.

는 Table 2와 같으며 그의 대표적인 gas liquid chromatogram은 Fig. 4와 같다.

중 子葉部에서 추출한 triglyceride fraction의 는 발아과정 중 계속 감소되었으며 발아 10일 후에

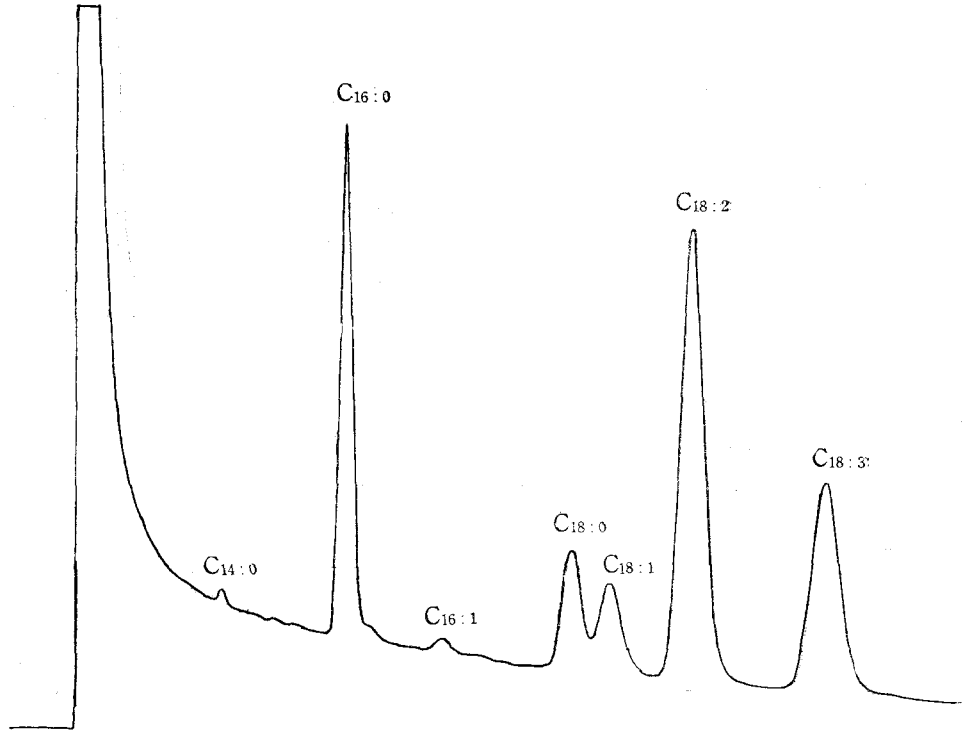


Fig. 4. Gas liquid chromatogram of methyl esters of fatty acid in the triglycerides fraction from cotyledon of soybeans after 6 days germination in the dark.

Table 2. Iodine value and fatty acid composition of triglycerides fraction in the cotyledon of soybeans germinated in the dark.

Germination time (days)	Iodine value ¹⁾	Fatty acids (%)									
		C _{14:0}	C _{16:0}	C _{16:1}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}	C _{20:0}	Sat'd	Unsat'd
0	135.8±0.2	tr.	11.8	tr.	4.1	21.7	52.7	9.7	—	15.9	84.1
2	135.2±0.2	tr.	12.0	tr.	4.6	22.2	52.0	9.2	—	16.6	83.4
4	134.8±0.2	tr.	12.2	tr.	4.7	22.7	51.5	8.9	—	16.9	83.1
6	133.4±0.4	tr.	12.7	tr.	5.9	22.1	51.0	8.3	—	18.6	81.4
8	132.5±0.3	tr.	13.2	tr.	7.5	20.9	50.4	8.0	tr.	20.7	79.3
10	131.6±0.3	tr.	12.2	tr.	8.9	21.6	49.5	7.8	tr.	21.1	78.9

1) Determined by the method of Wijs.

2) Mean ± Standard deviation.

3) tr. = <1%

는 발아전의 시료대두유에 비하여 4.2정도 감소되었다. 이와같은 결과는 대두발아 중 I.V가 계속 감소된다는 Neumann의 연구⁽¹⁵⁾와 일치되며 발아 6일 후부터 감소된다는 Holman의 연구와⁽³⁾도 대체로 비슷한 경향을 나타내고 있다. 그러나 대두 발아 중 I.V의 변화가 전혀 없었다고 보고한 Mac-

Lachlan의 연구⁽¹⁶⁾와 계속 증가한다는 Shuku의 연구⁽¹⁷⁾와는 상반되는 결과이다. 그리고 Miller⁽¹⁸⁾는 해바라기씨의 발아 중 I.V는 계속 감소한다고 보고한데 반하여 Mathes⁽¹⁹⁾는 증가한다고 하였으며 Jegerow⁽²⁰⁾는 호박씨의 발아에서 I.V는 감소한다고 한데 반하여 Neumann⁽¹⁵⁾은 증가하다가 감소한

다고 보고하였다. 이상과 같이 같은 종류의 종자 발아에서도 I.V의 변화가 相異한것은 품종 및 개체차등의 원인 때문인 것으로 추측된다. 본 실험에서 I.V의 감소현상은 飽和脂肪酸의 함량이 증가됨을 암시하여 주는데 지방산의 변화가 이를 입증하여 주고 있다.

즉 지방산 중 palmitic acid의 함량은 12.3 ± 0.4 %의 수준으로 큰 변화가 없었으나 stearic acid는 발아 중 계속 증가되었으며 10일 후에는 발아전의 대두유에 비하여 약 4.8% 증가하였다. 그리하여 대두발아 중 子葉部에서 추출한 triglyceride 중의 포화지방산의 함량은 계속 증가하였다. 이와같은 포화지방산의 변화는 대두발아 중 포화지방산이 증가한다고 보고한 MacLachlan의 연구⁽²¹⁾와 일치되는 결과이다. 불포화지방산 중 oleic acid의 함량은 발아중 약간의 증감이 있었다. 그러나 발아 초기에서의 oleic acid의 증가현상은 식물 lipase에 의한 선택적인 lipolysis^(22,23)의 결과는 아닌 듯 추측된다. 그것은 대두발아 중 존재하는 fatty acid dehydrogenase system^(24,25,26)에 의하여 지방산의 hydrogenation 및 dehydrogenation이 일어날 가능성이 있기 때문이다. 그리고 linoleic 및 linolenic acid의 함량은 발아 중 계속 감소되었으며 10일 후에는 발아전의 대두유에 비하여 각각 3.2% 및 1.9%씩 감소하였다. 이와같은 linoleic 및 linolenic acid의 감소경향은 Brown등의 연구⁽⁴⁾와는 상반되나 Holman⁽³⁾ 및 Singh 등의 연구⁽⁵⁾와 비슷한 경향이다. 또 linoleic 및 linolenic acid는 lipoxygenase activity의 감소경향과 비슷한데 이것은 linoleic 및 linolenic acid와 같은 불포화지방산

의 methylene 결합의 산화를 촉매하는 역할을 가진^(27,28) lipoxygenase에 의하여 이들 지방산이 우선적으로 산화되기 때문인 것으로 추측되며 前述한바와 같이 lipoxygenase activity가 발아 2일후부터 감소된것은 substrate인 linoleic 및 linolenic acid와 같은 불포화지방산의 함량이 감소하기 때문인 것으로 생각된다. 그리고 myristic 및 palmitoleic acid는 발아 중 모두 미량씩 검출되었으나 arachidic acid는 발아초기에는 검출되지 않다가 8일 후부터 미량으로 발견된 것은 특이한 현상이다.

대두발아 중 胚軸部에서 추출한 triglyceride fraction의 I.V 및 구성지방산의 변화를 정량한 결과는 Table 3과 같다. 즉 胚軸部에서 추출한 triglyceride fraction의 I.V.는 큰 변화없이 일정 하였으며 子葉部에서 추출한 triglyceride fraction의 I.V. 보다 일반적으로 낮은 값을 가지고 있었다. 그리고 지방산 중 palmitic acid의 함량은 큰 변화 없이 일정 하였다. linoleic 및 linolenic acid의 함량은 子葉部와는 반대로 계속 증가하였으며 10일 후에는 2일 후에 비하여 각각 2.5% 및 1.1%씩 증가하였다. 그러나 그 증가의 정도는 子葉部에서의 감소정도보다 적었다. 또 linoleic 및 linolenic acid의 증가는 胚軸部에서의 lipoxygenase activity와 같은 경향으로 증가하였는데 이것은 lipoxygenase의 substrate인 linoleic 및 linolenic acid가 증가되기 때문인 것으로 추측된다. 그리고 stearic 및 oleic acid의 함량은 子葉部에서와는 달리 그 증감의 변화가 매우 심한것으로 보아 이 두가지 지방산이 다른 지방산의 합성에 관여하는 前驅體

Table 3. Iodine value and composition of triglyceride fraction in the seedling axis of soybeans germinated in the dark

Germination time (days)	Iodine value	Fatty acids (%)									
		C _{14:0}	C _{16:0}	C _{16:1}	C _{18:1}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}	C _{20:0}	Sat'd	Unsat'd
2	129.4±0.4	tr.	12.3	tr.	8.4	21.4	49.2	8.7	—	20.7	79.3
4	129.0±0.3	0.2	11.7	tr.	9.7	20.5	49.2	8.9	—	21.6	78.6
6	130.4±0.4	tr.	11.9	0.2	7.2	21.8	49.7	9.1	tr.	19.3	80.7
8	129.5±0.2	tr.	11.8	tr.	8.8	18.6	51.3	9.5	tr.	20.6	79.4
10	103.8±0.3	tr.	9.9	tr.	9.2	19.4	51.7	9.8	tr.	19.1	80.9

Abbreviations as in Table 2.

의 역할을 하는것으로 추측된다. 그리고 일반적으로 胚軸部の stearic acid의 함량은 子葉部보다 많고 linoleic acid의 함량은 子葉部보다 적은것이 특이한 점이었다.

(2) Free fatty acid의 구성지방산

대두발아중 子葉部 및 胚軸部에서 추출한 free fatty acid fraction의 I.V 및 구성지방산의 변화를 정량한 결과는 Table 4 및 5와 같다.

Table 4. Iodine value and composition of free fatty acids fraction in the cotyledon of soybeans germinated in the dark

Germination time (days)	Iodine value	Fatty acids (%)									
		C _{14:0}	C _{16:0}	C _{16:1}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}	C _{20:0}	Sat'd	Unsat'd
0	133.3±0.3	tr.	12.5	tr.	5.1	23.4	51.6	7.4	—	17.6	82.4
2	133.7±0.2	tr.	12.4	tr.	4.7	23.0	52.0	7.9	—	17.1	82.9
4	133.5±0.4	tr.	14.4	tr.	5.0	22.6	52.8	7.2	—	17.4	82.6
6	133.2±0.2	tr.	12.7	tr.	4.9	23.5	50.4	8.4	—	17.6	82.3
8	133.8±0.3	tr.	11.5	tr.	5.6	22.2	51.6	9.1	tr.	17.1	82.9
10	132.6±0.3	tr.	11.7	tr.	6.4	21.5	53.0	7.2	0.2	18.3	81.7

Abbreviations as in Table 2.

Table 5. Iodine value and composition of free fatty acids fraction in the seedling axis of soybeans germinated in the dark

Germination time (days)	Iodine value	Fatty acids (%)									
		C _{14:0}	C _{16:0}	C _{16:1}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}	C _{20:0}	Sat'd	Unsat'd
2	131.3±0.4	tr.	11.9	tr.	7.7	24.5	48.4	7.5	—	19.6	80.4
4	131.1±0.2	tr.	11.8	tr.	8.3	24.9	47.1	7.9	—	20.1	79.9
6	131.2±0.2	tr.	10.8	tr.	9.2	22.0	51.6	6.4	tr.	20.0	80.0
8	131.8±0.3	0.2	10.8	tr.	8.5	25.5	50.3	7.1	tr.	19.1	80.9
10	129.4±0.4	0.2	12.3	tr.	9.1	23.2	49.2	6.0	tr.	21.6	78.4

Abbreviations as in Table 2.

즉 모든 지방산의 함량비는 子葉部나 胚軸部에서 모두 triglyceride의 경우와 같으며 발아 日數에 따른 지방산의 변화경향이 일정한 변화경향을 찾아볼 수 없고 모든 지방산이 불규칙하게 그 증감의 변화가 심하였다. 이것은 lipase의 분해로 생성된 각종 지방산은 지방과 다른 식물성분의 합성이나 에너지 발생과정에 이들의 각 지방산이 無作爲하게 이용되기 때문인 것으로 추측된다.

(3) Phospholipid의 구성지방산

대두발아중 子葉部 및 胚軸部에서 추출한 phospholipid fraction의 I.V 및 구성지방산의 변화를

정량한 결과는 Table 6 및 7과 같다.

즉 子葉部 및 胚軸部の phospholipid fraction의 모든 지방산의 변화경향은 triglyceride fraction의 모든 지방산의 변화경향과 비슷하였다. 이와같은 결과는 亞麻씨의 발아에서 phospholipid의 구성지방산 중 linoleic 및 linolenic acid의 함량이 증가한다는 Zimmerman⁽²⁷⁾의 연구결과와는 상반되는 현상이다. 본실험에서 phospholipid fraction의 구성지방산 중 linoleic acid의 함량만이 triglyceride fraction에서보다 많은 것이 특히 하였고 oleic 및 linolenic acid의 함량은 triglyceride fraction에서

Table 6. Iodine value and fatty acid composition of phospholipids fraction in the cotyledon of soybeans germinated in the dark

Germination time (days)	Iodine value	Fatty acids (%)									
		C _{14:0}	C _{16:0}	C _{16:1}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}	C _{20:0}	Sat'd	Unsat'd
0	134.2±0.1	tr.	12.1	tr.	5.2	18.5	56.4	7.2	—	17.9	82.1
2	133.8±0.3	tr.	13.0	tr.	5.8	18.1	56.2	6.7	—	18.8	81.2
4	132.2±0.5	tr.	13.6	tr.	6.8	18.7	55.9	6.0	—	20.4	80.6
6	132.0±0.2	tr.	13.4	tr.	7.0	18.4	54.7	5.8	tr.	20.4	79.9
8	131.8±0.4	tr.	12.6	tr.	9.4	18.3	54.3	5.5	tr.	22.0	78.1
10	131.4±0.4	tr.	11.2	tr.	9.9	19.2	54.0	5.3	tr.	21.4	78.5

Abbreviations as in Table 2.

Table 7. Iodine value and fatty acid composition of phospholipids fraction in the seedling axis of soybeans germinated in the dark

Germination time (days)	Iodine value	Fatty acids (%)									
		C _{14:0}	C _{16:0}	C _{16:1}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}	C _{20:0}	Sat'd	Unsat'd
2	133.2±0.3	tr.	12.2	tr.	6.7	16.0	58.8	6.3	—	18.9	81.1
4	133.3±0.2	tr.	12.1	tr.	6.5	16.5	58.4	6.5	tr.	18.6	81.4
6	133.7±0.3	tr.	11.1	tr.	6.1	16.8	58.9	7.1	tr.	17.2	82.8
8	133.4±0.4	tr.	11.5	tr.	6.4	16.3	58.2	7.6	tr.	17.9	82.1
10	132.5±0.2	tr.	12.8	tr.	6.9	15.8	57.4	7.1	tr.	19.7	80.3

Abbreviations as in Table 2.

보다 적었다. 이것은 대두의 phospholipid 와 triglyceride 의 구성지방산이 서로 다르기 때문이다.

(4) 粗脂肪의 구성지방산

대두발아중 子葉部 및 胚軸部에서 추출한 粗脂肪의 I.V 및 구성지방산의 변화를 정량한 결과는 Table 8 및 9와 같다.

즉 子葉部 및 胚軸部の 粗脂肪의 모든 구성지방산의 변화경향은 triglyceride fraction 의 그것과 비슷하였다. 이것은 대두중의 脂肪質은 97% 이상 이 중성지방인 triglyceride 로 구성되어 있기 때문에 粗脂肪의 구성지방산의 변화는 triglyceride

fraction 의 구성지방산의 변화에 크게 의존됨은 당연한 결과라 생각된다. 그리고 子葉部에서 추출한 粗脂肪의 구성지방산 중 oleic, linoleic 및 linolenic acid 의 함량은 발아 중 모두 감소되었는데 이것은 이와같은 불포화지방산이 lipoxygenase 에 의하여 빨리 산화되기 때문인 것으로 추측된다.

이상과 같은 지방산의 변화경향으로 보아 식물체의 종자중에 일반적으로 함량이 가장 많은 C₁₈

酸의 轉位 및 合成에 관하여는 stearic $\xrightleftharpoons[+2H]{-2H}$ oleic

$\xrightleftharpoons[+2H]{-2H}$ linoleic $\xrightleftharpoons[+2H]{-2H}$ linolenic acid 의 과정에 따른

Table 8. Iodine value and fatty acid composition of crude fat in the cotyledon of soybeans germinated in the dark

Germination time (days)	Iodine value	Fatty acids (%)									
		C _{14:0}	C _{16:0}	C _{16:1}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}	C _{20:0}	Sat'd	Unsat'd
0	133.4±0.5	tr.	11.8	tr.	6.6	19.7	53.5	8.4	—	18.4	81.6
2	132.2±0.6	tr.	12.5	tr.	7.3	19.2	53.0	8.0	—	19.8	80.2
4	131.6±0.3	tr.	13.4	tr.	7.5	18.8	52.6	7.7	—	20.9	79.1
6	131.1±0.3	tr.	13.8	tr.	8.3	18.3	52.4	7.2	—	22.1	77.9
8	130.2±0.5	tr.	13.6	tr.	9.5	18.3	51.5	7.1	tr.	23.1	76.9
10	130.1±0.2	tr.	15.6	tr.	9.0	17.7	51.2	6.5	tr.	24.6	75.4

Abbreviations as in Table 2.

Table 9. Iodine value and fatty acid composition of crude fat in the seedling axis of soybeans germinated in the dark

Germination time (days)	Iodine value	Fatty acids (%)									
		C _{14:0}	C _{16:0}	C _{16:1}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}	C _{20:0}	Sat'd	Unsat'd
2	131.2±0.3	tr.	12.4	tr.	7.2	26.4	46.8	7.2	—	19.6	80.4
4	131.7±0.4	tr.	12.2	tr.	7.0	26.5	46.9	7.4	—	19.4	80.8
6	132.2±0.2	tr.	10.7	tr.	6.9	27.2	47.4	7.8	tr.	17.6	82.4
8	132.8±0.2	tr.	9.9	tr.	6.2	27.6	47.7	7.6	tr.	16.1	82.9
10	131.5±0.3	tr.	10.8	tr.	8.8	26.1	46.1	8.1	—	19.6	80.3

Abbreviations as in Table 6.

다른 여러 연구자들의 說^(30,31,32)을 본 실험결과도 뒷받침하여 주고 있다. 즉 합성적인 대사를 하는 胚軸部에서 triglyceride fraction의 I.V의 증가와 함께 linoleic 및 linolenic acid의 양도 증가되었으며 stearic 및 oleic acid의 함량은 그 증감의 변화가 심한 것으로 보아 linoleic 및 linolenic acid의 합성을 위한 前驅體의 역할을 하는 것으로 생각되며 분해적인 대사를 하는 子葉部에서 triglyceride fraction의 I.V의 감소와 함께 linoleic 및 linolenic acid의 양이 계속 감소 되었으며 stearic acid는 계속 증가되었기 이를 입증하여 주고 있다. 또 각종 유리지방산은 C₂-unit로 분해되기 때문에 短鎖의 지방산이 발견될 것으로 예상되었으나, 본 실험결과에서는 C₁₂ 이하의 短鎖지방산은 검출되지 않았는데 이것은 지방산이 C₂-unit로 분해될 때까지 효소와 복합체를 형성하고 있으며⁽⁵⁾ 이의 효소분자는 지방산분자보다 크고 極性이 크기 때문에 효소와 저급지방산의 복합체는 본 실험에서 사용한 유지추출 용매에 의하여 분리되지 않기 때문인 것으로 추측된다.^(5,33) 그리고 Stumpf 등^(34, 35)은 낙화생의 발아에서 지방산의 일부는 α -oxidation에 의하여 산화되며 奇數탄소수의 지방산이 발견되었다고 하였는데 본 실험에서는 奇數탄소수의 지방산이 전혀 발견되지 않은 것으로 보아 대두발아중 지방산은 C₂-unit로 분해 이용되는 것으로 생각되며 또한 free fatty acid fraction의 모든 지방산이 불규칙하게 그 증감의 변화가 심한 것으로 보아 이들 각종 유리지방산은 에너지 발생과정이나 合成대사에 無作爲하게 이용되는 것으로 추측된다.

要 約

한국산의 대두를 21~25°C의 暗所에서 10일 동안 發芽시키면서 2일 간격으로 豆芽를 채취하여 子葉部와 胚軸部의 2부분으로 분리한 후 이 두部位의 lipoxigenase activity와 triglyceride, free fatty acid, phospholipid 및 粗脂肪의 구성지방산의 변화를 각각 비교한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

(1) 발아중 子葉部의 lipoxigenase activity는 2일 후부터 급속히 감소하였으나 胚軸部에서는 2일 후부터 서서히 증가하였다. 이와같은 lipoxigenase activity의 변화는 子葉部에서 linoleic 및 linolenic acid의 감소경향과 胚軸部에서 이들 지방산의 증가경향과 동일하였다.

(2) 발아중 子葉部에서 추출한 triglyceride fraction의 요오드값은 계속 감소하였으나 胚軸部에서는 큰 변화없이 일정하였으며 胚軸部の 요오드값은 子葉部の 것보다 낮았다.

(3) 발아중 子葉部の triglyceride의 구성지방산중 palmitic acid의 함량은 큰 변화가 없었으며 stearic acid는 계속 증가하였고 oleic acid는 증감의 변화가 불규칙적이며 linoleic 및 linolenic acid는 계속 감소하였다.

그러나 胚軸部에서는 palmitic acid의 함량은 큰 변화가 없었으며 linoleic 및 linolenic acid의 함량은 계속 약간씩 증가하였고 stearic 및 oleic acid는 불규칙적으로 함량의 변화가 심하였다.

(4) 발아중 子葉部 및 胚軸部에서 추출한 free fatty acid fraction의 모든 구성지방산은 불규칙하게 그 증감의 변화가 심하였다. 이와같은 현상은 lipase의 분해로 생성된 각종 지방산은 合成과정이나 에너지 발생과정에 無作爲하게 이용되기 때문인 것으로 추측된다.

(5) 발아중 奇數탄소수의 지방산은 전혀 발견되지 않았는데 이는 대두발아중 지방산은 C₂-unit로 분해 및 이용되기 때문인 것으로 추측된다.

(6) 子葉部 및 胚軸部에서 추출한 phospholipid 및 粗脂肪의 모든 구성지방산의 변화는 triglyceride fraction의 지방산의 변화경향과 비슷하였다.

參 考 文 獻

- 1) 辛孝善 : 한국농화학회지, 17, 239 (1974).
- 2) Eyster, H.C. : Am. J. Bot., 25, 33 (1938).
- 3) Holman, R. T. : Arch. Biochem., 17, 459 (1948).
- 4) Brown, B. E., Meade, E. M. and Butterfield, J. R. : J. Am. Oil Chemists' Soc., 39, 327 (1962).
- 5) Singh, B.B., Hadley, H.H. and Collins, F.I. : Crop Sci., 8, 171 (1968).
- 6) Theorell, H., Bergström, S. and Åkeson, Å. : Pharm. Acta Helv., 21, 318 (1946).
- 7) Carroll, K.K. : J. Am. Oil Chemists' Soc., 40, 413 (1963).
- 8) Carroll, K.K. : J. Lipid Res., 2, 135 (1961).
- 9) Marinetti, G.V. : Lipid Chromatographic Analysis, Marcell Dekker Inc., New York, p. 221 (1967).
- 10) Carroll, K.K. : J. Lipid Res., 3, 388 (1962).

- 11) Craig, B. M. and Murity, N.L. : J. Am. Oil Chemists' Soc., **36**, 549 (1959).
- 12) Metcalfe, L. D. and Schmitz, A. A. : Anal. Chem., **33**, 363 (1961).
- 12) Metcalfe, L. D. and Schmitz, A. A. : Anal. Chem., **33**, 363 (1961).
- 13) Duron, O.S. and Nowotny, A. : Anal. Chem., **35**, 37 (1963).
- 14) Graupner and Alluise : J. Am. Oil Chemists' Soc., **43**, 81 (1966).
- 15) Neumann, P. : Biochem. Z., **308**, 141 (1941).
- 16) MacLachlan, P.L. : J. Biol. Chem., **107**, 783 (1934).
- 17) Shuku, S.J. : Dept. Agr., Kyushu Univ., **5**, 51 (1936) ; Chem. Abstr., **31**, 4687 (1937).
- 18) Miller, E.C. : Ann. Bot., **26**, 889 (1912).
- 19) Mathes, E. : Bot. Arch., **19**, 79 (1927).
- 20) Jegerow, M. : Bot. Gazette, **101**, 597 (1940).
- 21) MacLachlan, P.L. : J. Biol. Chem., **114**, 185 (1935).
- 22) Reiser, R. and Ranakrishna, R. : J. Am. Oil Chemists' Soc., **36**, 97 (1959).
- 23) Robbins, W.A. and Porter, R.H. : J. Am. Soc. Agron., **38**, 905 (1946).
- 24) 福場博保, 小丸晴夫 : 日本農藝化學會誌, **28**, 74 (1954).
- 25) 福場博保 : 日本農藝化學會誌, **31**, 67 (1957).
- 26) 福場博保, 山澤伸江, 光澤徳子 : 日本農藝化學會誌, **31**, 132 (1957).
- 27) Hilditch, T.P. and Jones, E.E. : J. Soc. Chem. Ind., **53**, 171 (1931).
- 28) Sumner, J. B. and Myrback, K. : The Enzymes, Chemistry and Mechanism of Action, Academic Press Inc., New York, vol. 2, Part 1, p. 559 (1951).
- 29) Zimmermann, D.C. and Klosterman, H.J. : J. Am. Oil Chemists' Soc., **42**, 58, (1965).
- 30) Kenneth, S. : Plant Physiol., **38**, 65 (1963).
- 31) Narayan, R. and Joshi, A.C. : Indian J. Biochem. Biophys., **8**, 62 (1971).
- 32) Dutton, J.J. and Mounts, T.L. : J. Lipid Res., **7**, 221 (1966).
- 33) Lynen, F. : Federation Proc., **24**, 941 (1961).
- 34) Stumpf, P. K. and Martin, R. O. : J. Biol. Chem., **234**, 2548 (1959).
- 35) Stumpf, P.K. and Newcomb, E.H., in McElroy, W.D. and Glass, H.B. (Editors), Phosphorus metabolism, vol. 2, Johns Hopkins Press, Baltimore, p. 291 (1952).