

Lipoxygenase의 특이성과 그 이용



박 기 현

〈韓國煙草研究所 생화학연구실장〉

I. 서 론

식품의 가공은 물리적 또는 화학적인 처리와 이를 병행한 여러 방법으로 꾸준히 개발되어 오늘날 다양한 상품으로 소비자의 요구에 부응하고있어 우리나라의 식품공업도 이제는 선진식품공업계와 견주어 크게 손색이 없을 것으로 생각된다.

그러나 아직도 우리나라의 식품공업은 1차 또는 2차적인 단순가공정도에 머물러 있다고 해도 과언이 아니며 먼 장래를 생각할때 이를 탈피하기위해서는 먼저 식품공업계의 두뇌유치는 물론 이를 뒷받침하는 과감한 연구투자가 선행되어야하며 계속된 새로운 제품의 개발과 이미개발된 제품의 품질고급화를 시도하지 않는다면 때때로 소비자의 외면을 받지 않을까 우려되는 바 크다.

그런데 국내의 식품공업계 현황을 살펴볼때 효소를 이용한 식품제조는 그동안 꾸준한 연구에 의해 괄목할만한 성과를 거두고 있으며

그중에서 특히 양조업과 과즙음료 및 유류가공분야는 최근의 경제성장에 따른 식생활의 다양화로 많은 진전을 보여주고 있다.

그러나 효소에 의해 생성된 중간반응생성물을 이용하는 방법은 국내에서 현재 별로 연구된바 없으며 특히 여러효소중에서 lipoxygenase의 이용은 전무한 상태이다.

따라서 lipoxygenase의 이용에 따른 상업적인 가능성에 대한 최근의 연구동향을 고찰하여 식품공업계는 물론 의약품제조업에 그 기초 자료를 제공하고자 한다.

II. 본 론

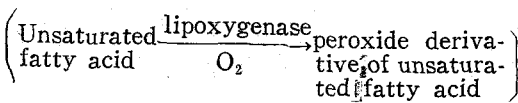
1. Lipoxygenase의 특이성

여러 식물체에서 발견되는 lipoxygenase는 그동안 생화학적인 특이성 등이 관심의 대상이 되어왔으나 식품화학분야에서도 많은 연구가 이루어져 오늘날에는 lipoxygenase의 효소특이성을 이용한 식품제조와 의약품등의 제조원료로 각광을 받고 있다.

이 효소에 대한 식품화학적 특성을 간단히 소개하면 cis-cis-1,4-Pentadiene system을 갖고있는 linoleic acid, linolenic acid, arachidonic acid등과 같은 불포화지질의 자동산화에 대해서 촉매작용을 나타내며 그 결과 hydroperoxide를 생성한다.

그러나 이때 생성된 주된 산물은 광학적으로 활성을 나타내는 cis-trans conjugated monomeric hydroperoxide이다. 한편 이 효소는 극히 낮은 온도에서도 그 활성을 유지하기 때문에 hydroperoxide형성에 소요되는 활성화에너지는 불과 4.3kcal/mole정도밖에 안된다.

따라서 lipoxygenase가 다량 들어있는 야채류나 육류와 같은 지방질식품의 저장에서 이 효소에 의한 식품성분의 변화를 억제시키기 위해서는 지질성분의 확산이 억제되는 온도에서만 가능하기 때문에 식품이 완전한 동결에 의해서만 lipoxygenase가 촉매하는 자동산화의 속도가 효과적으로 억제된다.



그리고 이 효소는 산소존재하에서 linoleic acid를 hydroperoxy-conjugated octadecadienoic acid (HCD)로 산화한다.

한편 대두에 들어있는 lipoxygenase는 다른 식물조직에 있는 것들보다 가장 높은 활성을 나타내기 때문에 이 효소의 효율적인 자원 확보

표 1. Lipoxygenase가 들어있는 식물체 종류

Apple	Mustard	Snap beans
Alfalfa	Peas	Soybean seeds
Cauliflower	Peanut	Squash
Eggplant	Peppers	Sunflower seeds
Flaxseed	Potatoes	Tomatoes
Greenbeans	Pumpkin	Watermelon
Lima beans	Rapeseed	Wheat
Maize	Red beans	

를 위해서는 대두를 사용하는 것이 가장 바람직하다.

표 1은 현재까지 알려진 lipoxygenase가 다량 함유된 식물체와 또는 종자들을 나열한 것이다.

lipoxygenase는 기질상태와 반응혼합물의 pH에 따라 선택성과 활성이 변하는데 예를들면, 옥수수배아에 들어있는 이 효소는 거의 순수한 9-D-hydroperoxy-trans-10과 cis-12-octadecadienoic acid를 생성하는데 아마씨(flaxseed)의 것은 80%의 13-L-hydroperoxy-cis-9와 trans-11-octadecadienoic acid를 생성한다.

이와 대조적으로 대두의 lipoxygenase는 일반적으로 13-hydroperoxy-cis-9와 trans-11-octadecadienoic acid를 70% 생성하며 그 나머지 30%는 9-hydro-peroxy-trans-10, cis-12-octadecadienoic acid이다.

그러나 이런 비율은 산소함량, pH, Ca⁺의 존재여부등에 따라 조금씩 다르다.

근래에 대두의 lipoxygenase에서 isoenzyme이 확인되었으며 이들의 최적 pH는 6.8~9.0 정도로 넓은 범위를 보이는데 pH의 변화에 따라 isoenzyme에 의한 중간생성물도 다르다. 표 2는 lipoxygenase에 의해 생성된 HCD가 분자재결합이나 계속된 반응에서 생성된 지방산의 산화물을 나열한 것이다.

한편 반응속도에 대한 연구도 활발하며 그림 1은 반응생성물이 free enzyme에 더 큰 친화력을 갖기 때문에 경쟁적인 억제를 보여주고 있다.

이에 대한 이론적인 반응속도상수와 실험적인 것과는 잘 일치되고 있다. 기질(L₀)과 생성물(L₀-OOH)사이에는 무분별하게 결합이 잘 일어나며 hydroperoxide와 기질이 다 같이 lipoxygenase에 결합되어 있다.

표 2. Lipoxygenase에 의해 Linoleic acid의 산화에 관련되어 생성된 지방산의 산화물

- 9-D-hydroperoxy-trans-10, cis-12-Octadecadienoic acid
- 13-L-hydroperoxy-cis-9, trans-11-octadecadienoic acid
- 9-oxooctadeca-10, 12-dienoic acid
- 13-oxooctadeca-9, 11-dienoic acid
- 9-hydroxy-cis-12, 13-epoxy-trans-10-octadecadienoic acid
- 13-hydroxy-cis-9, 10-epoxy-trans-11-octadecadienoic acid
- 9, 12, 13-trihydroxy-trans-11-octadecadienoic acid
- 12-oxo-13-hydroxy-cis-9-octadecenoic acid
- 10-oxo-9-hydroxy-cis-12-octadecenoic acid
- 9, 10-dihydroxy-cis-12-octadecenoic acid
- 12, 13-dihydroxy-cis-9-octadecenoic acid
- 12-oxo-9, 10-dihydroxy-trans-11-octadecenoic acid
- 9-oxo-12, 13-dihydroxy-trans-10-octadecenoic acid
- 9, 12-dihydroxy-trans-10-octadecenoic acid
- 10, 13-dihydroxy-trans-11-octadecenoic acid
- 11-hydroxy-12, 13-epoxy-9-octadecenoic acid

2. Lipoxygenase의 이용

빵제조에서 lipoxygenase 이용에 의한 밀가루 반죽의 표백등은 영국, 미국 등지에서 널리 실시되고 있는데 이 방법은 1934년 Hass와 Bohn에 의해 처음으로 시도되었으며 0.5~1%의 lipoxygenase를 함유한 대두분을 밀가루반죽에 첨가하면 감촉이 대단히 부드러운 미세한 빵가루가 되어 부드러운 빵조적으로 개선되며 부피

를 증가시키는 동시에 흰빵이 만들어진다. 그리고 제조된 빵에서는 호도향을 나타내며 빵모양은 잘 변형되지 않아 원래 시도했던 물성적인 특성을 그대로 유지시킬 수 있는 장점이 있다.

밀가루반죽에서 lipoxygenase에 의한 linoleic, linolenic acid의 산화는 carotene색소표백의 시작으로 색소산화의 그 다음 단계는 지방산의 산화생성물인 HCD와 밀가루색소 사이에 제 2차의 계속된 산화에서 오는 결과이다.

Carotene색소는 linoleic hydroperoxide 생

성과정중에 계속적으로 파괴되는 것으로 생각되는데 또다른 가능성은 linoleic hydroperoxide가 생성된 후 이것과 색소가 직접적으로 반응하는 결과 때문인지도 모른다. 그러나 이상한것은 대두에 들어있는 이와 유사한 색소들은 위의 방법에 의해 산화 또는 표백되지 않는다.

한편 표 3은 lipoxygenase에 의해 산화가 계속되므로써 파

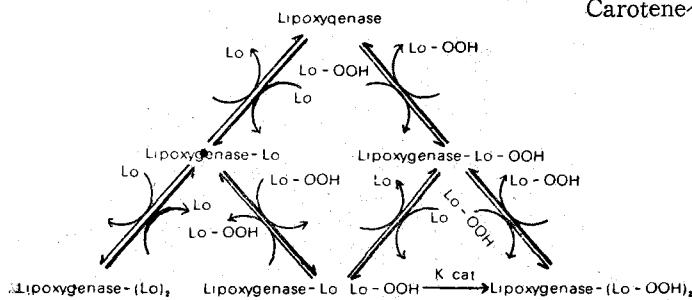


그림 1. Lipoxygenase에 의한 linoleic acid의 산화기작

- i) L_o = linoleic acid, L_o -OOH = linoleic-hydroperoxide
- ii) lipoxygenase- L_o 와 lipoxygenase- L_o -OOH는 lipoxygenase와 linoleic acid 또는 lipoxygenase와 linoleic hydroperoxide 사이에 형성된 복합물임
- iii) 산소분자의 반응은 표시하지 않았음
- iv) Kinetic parameter는 $K_{cat} = 6.26 \times 10^{-6}$ moles/sec(mg/ml)⁻¹이며 $K_M = 7.7 \times 10^{-6}$ moles/liter

괴되는 여러 물질을 예로 든 것이다. 그러나 이들 화합물은 대두분(soybean flour)에 함유된 다른 미지의 효소반응에 의해 일부가 파괴된다고도 볼 수 있다.

이와같은 이론은 표 2에서와 같이 lipoxygenase-밀가루-물의 혼합물에서 산화된 여러 지방산의 분리에 의해 확인된 것으로 뒷받침된다. 이들 산화생성물인 지방산은 lipoxygenase와 밀가루의 gluten사이에 형성된 새로운 복합물에 의해 촉매되는 반응생성물이다.

표 2의 생성물중의 어떤 것들은 곡류단백질의 thiol 또는 sulfhydryl기와의 반응에 의해

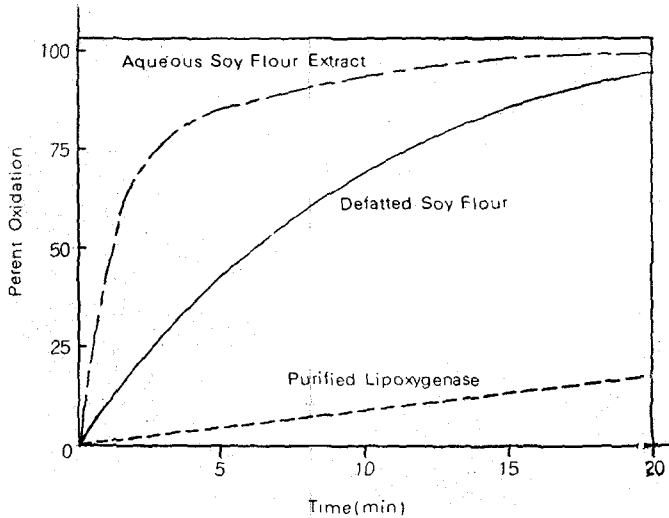


그림 2. 10% Aqueous ethanol에서 lipoxygenase의 활성
i) 기질농도 4mg/ml safflower oil
ii) 기질대 lipoxygenase의비 80.

생성되는 것으로 추측되며 개선된 물성적인 특성과 함께 호두향의 발현으로 빵제조산업에 큰 비중을 차지하고 있다.

그리고 수용성인 대두분추출물은 lipoxygenase를 값싸게 얻을 수 있는 자원으로서 그림 2는 수용성인 대두분추출물과 탈지대두분 그리고 정제한 lipoxygenase가 10%수용성 에타놀과 4mg/ml의 기질농도에서 시간이 경과되면서 lipoxygenase의 source에 따라 활성도가

표 3. Linoleic acid산화에 이어 산화되는 여러 화합물들

Carotene	Luminol
Xanthophyll	Cytochromc
Vitamine	Diphenylisobenzofuran
Phytofluoene	Tetracyclone
Thyroxine	Chlorophyll
Cholesterol	Violaxanthin
Bixin	

변화되는 상태를 비교한 것이다. 그림에서 살펴보면 수용성 추출물인 일종의 soy whey가 가장 높은 활성을 나타내는 것은 식품가공 및 의약품제조에서 상업적 이용이라는 면에서 고무적인 일이다.

그리고 soy whey는 대두단백제조과정중에 얻어지는부산물이기도 해서 유용한 경제성 있는 자원이 될 수 있다.

한편 4mg/ml의 기질 농도는 10%수용성 에타놀용매에 최적의 농도이다. 그러나 더 높은 에타놀농도는 효소의 변성을 초래한다. 그림 3은 10%기질농도와 20%수용성 dimethyl sulfoxide (DMSO)에서 나타내는 여러소스의 lipoxygenase의 활성을 표시한 것이다. 이에서 살펴보면 탈지대두

표 4. 1kg의 HCD를 생산하는데 소요되는 비용(원)

세	목	비 용
Soybean whey		3
Solvent(DMSO, n.butanol)		71
Chemicals (NaHSO ₄ , NaOH, H ₂ SO ₄ , H ₃ BO ₃)		129
Fuel과 energy		26
Labor(batch process)		71
총 계		300

분과 대두분의 수용성추출물은 용매농도가 높

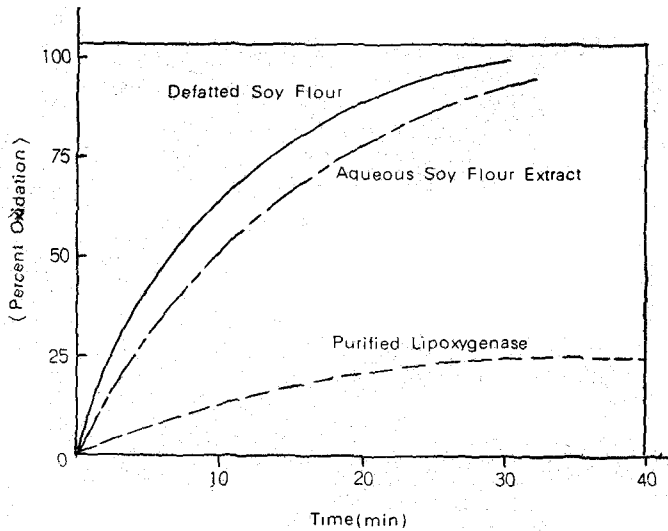


그림 3. 20% 수용성 DMSO에서 lipoxigenase의 활성
 i) 기질농도 : 100mg/ml safflower oil soap.
 ii) 기질배 : lipoxigenase의 비 500

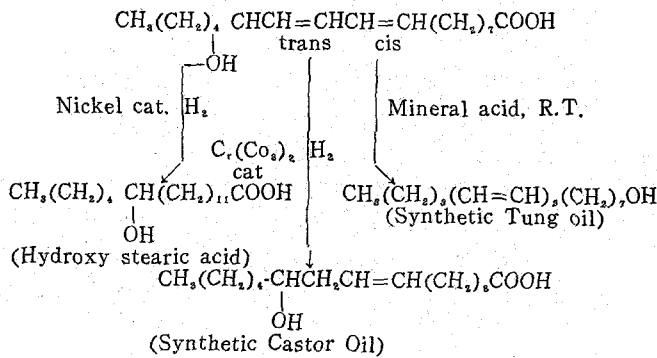


그림 4. HCD의 탈수와 수소화반응

처리로 쉽게 탈수된다. 그림 4에서 보는 바와 같이 HCD의 완전한 수소화는 피마자유(ca-stor oil)의 주성분인 ricinoleic acid의 수소화에서 생성되는 것과 유사한 hydroxy-stearic acid를 생성하기도 하며 촉매제로서 chromium carbonyl과 함께 수소화반응을 시키면 합성품인 피마자유가 된다.

한편 HCD의 Diels-Alder반응 생성물은 가소제(plasticizer)

은 데에도 불구하고 그림 2의 결과에 비해 활성이 증가되었다. 따라서 용매선택과 그 농도에 따라 효소의 활성도가 변화되기 때문에 이에 대한 연구가 더 구체화되어야 할 줄 안다.

한편 HCD를 생산하는데 소요되는 비용은 실험실적인면에서 계산할 때 1kg당 약 300원으로 추산된다. 그림 4는 이들 세목을 구체적으로 계산한 것이며 사용된 용매의 회수는 사용량의 90%정도로 계산했다.

그러나 유지수급상황에 따른 시세 변동 때문에 기질로 사용되는 linoleic acid의 비용과 자본투자, 경상비용의 여러 비용은 포함되지 않았다. HCD에서 지방산류와 conjugated diene, combined hydroxy등은 좀더 산화되기 쉬운 중간산물로서 염산이나 황산과 같은 산

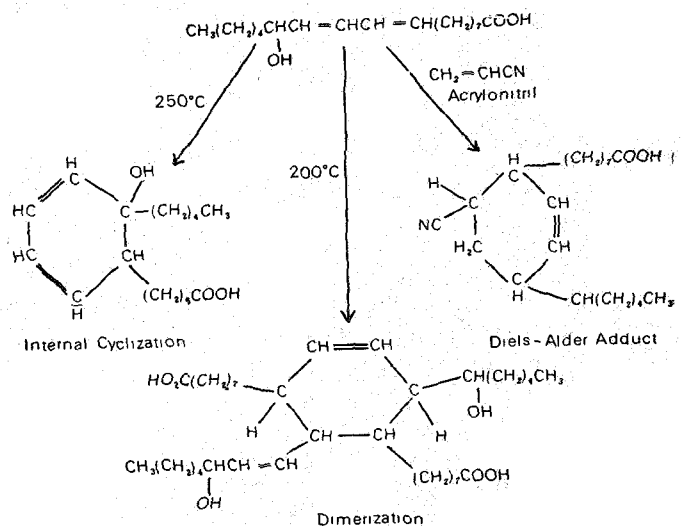


그림 5. HCD의 Diels-Alder반응

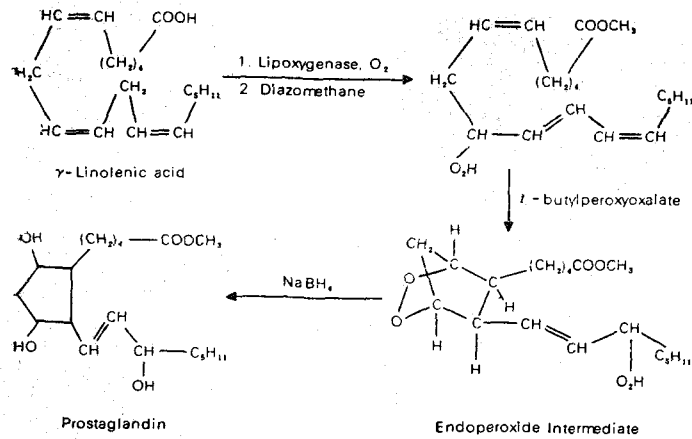


그림 6. r-Linolenic acid hydroperoxide로부터 Prostaglandin의 합성과정

나 도로제조의 원료로 사용되는 여러 산물을 생성하는데 그림 5는 이와같은 반응을 요약한 것이다.

그리고 arachidonic acid, 또는 r-linolenic acid를 lipoxygenase를 사용하여 그림 6에서 보는 바와 같이 prostaglandin을 생산할 수 있는데 이 물질은 동물조직에서 홀몬 활성의 조절인자로서 vasopressin의 작용과는 반대되는 즉, 혈압강 하작용을 하는 물질로서 의약품제조에 사용되기도 한다.

III. 결 론

이상의 내용은 lipoxygenase를 이용하는 데 있어서 주로 식품공업분야를 중심으로 상업화 가능성을 실험적이고 또한 이론적인 뒷받침을 곁들여 기술하였다.

간단히 요약하면 lipoxygenase는 여러 식물 조직에 들어 있지만 그 중에서 생산비용이 적게 들며 손쉽게 얻을 수 있는 대두의 lipoxygenase를 이용하는 것이 가장 효과적이며 빵제조에 lipoxygenase가 함유된 이들 대두분 또는 수용성대두추출물을 첨가하면 빵조각이 부드럽고 호두향이 발현되는 동시에 물성적인

특성을 유지하게 되므로 품질개선에 소기의 목적을 달성할 수 있다.

한편 lipoxygenase에 의한 linoleic acid, linolenic acid, arachidonic acid 등의 중간반응생성물인 hydroperoxy-conjugated octadecadienoic acid (HCD)는 좀더 산화시

키든가 그밖의 반응을 통해 식품공업에서 여러 면으로 이용할 수 있는 방법이 모색되고 있으며 r-linolenic acid로부터 생성되는 prostaglandin은 의약품으로 현재 활발히 이용되고 있다.

그러나 효소이용에 의한 식품제조란 면에서 볼때 다른 종류의 효소와 마찬가지로 lipoxygenase의 경우도 식품화학적인 연구는 물론 식품공업적인 면에서 아직도 많은 연구가 있어야 하며 더구나 우리나라의 식품공업계를 돌이켜 볼때 이에 대한 부단한 연구가 이루어져야 할 줄 안다.

◇ — ◇

<p. 48에서 계속>

있다.

한편 母乳를 안먹는 人工營養兒, 幼兒, 成人과 老人에선 腸內에서의 Bifidus菌의 増殖이 실통치 않다. 그 主因은 Bifidus菌의 増殖에 필요한 Bifidus因子가 不足하기 때문이다.

이 因子에 대한 研究는 많은데 現在 Bifidus 因子로 優秀한 것으로 인정받고 있는 것이 乳糖을 異性化한 異性化乳糖(lactulose)이다.

Petuely는 lactulose가 Bifidus因子임을 밝혔다 그 후 Hoffmann Ruttlof등이 lactulose에 의해 Bifidus菌과 Acidophilus菌이 번식해서 Urease가 없기 때문에 N化合物을 分解하지 않고 actlose를 分解해서 有機酸으로 하여 腸內의 pH를 떨어뜨려 有害菌의 번식을 억제시킨다고 발표하고 있다.