

Lipoxygenase가 제빵시 반죽의 물성에 미치는 영향

윤 선 · 박희옥 · 오혜숙

연세대학교 가정대학 식생활학과

(1982年 11月 2日 수리)

The Effect of Lipoxygenase Action on the Mechanical Development of Wheat Flour Doughs

Sun Yoon, Hee Ok Park and Hae Sook Oh

Department of Food and Nutrition, Yonsei University

(Received November 2, 1982)

Abstract

This study was to investigate the effect of lipoxygenase on the mechanical development of wheat flour doughs. The flour mixtures used for experiments were 100% wheat flour (S_1), 90% wheat flour and 10% raw soy flour (S_2), 90% wheat flour and 10% toasted soy flour (S_3), and 90% wheat flour and 10% toasted soy flour with the addition of lipoxygenase preparation (S_4). When flour mixtures were compared with control (S_1), S_2 demonstrated lower water absorption, lower mixing tolerance index (MTI) and lower dough weakening and increased dough development time, whereas S_3 showed higher water absorption, lower MTI, lower dough weakening and the same dough development time. The addition of lipoxygenase to S_3 (S_4) resulted in the same water absorption, longer dough development time, lower MTI and lower dough weakening than those of S_3 , which were comparable with S_2 . Percent water absorption of flours, obtained from extensograph, was highest in S_3 and lowest in S_2 . Addition of both raw and toasted soy flour to wheat flour resulted in an increased energy, S_4 demonstrated higher extensibility and lower resistance to extension than S_3 , and those values of S_4 were comparable with S_2 . The experimental data obtained from this study suggested that soy flour mixtures containing lipoxygenase had better mechanical dough properties than toasted soy flour mixture without lipoxygenase.

서 론

Lipoxygenase (linoleate : oxygen oxidoreductase, EC 1, 13, 11, 12)는 주요한 산화효소 중의 하나로 식물계에 널리 분포되어 있으며^(1,2), 특히 대두류에 풍부하게 존재하고 있다⁽³⁾.

Lipoxygenase는 multiple 형태나 isoenzymes의 형태로 존재하고 있으며, 각 isoenzymes은 최적 pH, 탈색 능력, 기질특이성 등이 다른 것으로 보고되었다⁽³⁾.

Lipoxygenase는 불포화지방산의 *cis*, *cis*-1,4-pentadiene을 산화시켜 과산화물을 형성하는 효소로써^(4,5), 식품을 가공·저장할 경우 불포화지방산의 산화로 인한 식품변질의 주요한 원인으로 알려져 왔다. 또한, 이 효소는 부수적인 반응으로 카로틴·클로로필 같은 색소를 탈색시키며, 밀가루 반죽 내에서 글루틴의 sulphydryl group을 산화시켜 반죽의 물성에 변화를 초래한다고 보고되었다⁽⁶⁾. Lipoxygenase가 반죽의 물성에 관여하는 기작은 불포화지방산을 산화시키는 과정에서 형성되는 중간생성물이 글루틴의 소수기에 들어가서 sulphy-

dryl group을 산화시킴으로써 글루틴의 구조에 변화를 주고, 이때 유리된 지방이 제빵의 부피를 증가시키고 질감을 부드럽게 한다고 보고되었다^(7~9)

이와같이 lipoxygenase가 sulphydryl group을 산화시킨다고 알려졌으나 그 정확한 기작은 밝혀지지 않았다. 본 연구에서는 대두에서 lipoxygenase를 추출하여 반죽에 첨가하였을 때 반죽물성에 미치는 영향을 알아보았다.

재료 및 방법

실험재료

효소추출을 위한 탈지대두분은 시판중인 날콩가루(미림식품)에 아세톤처리를 하여 제조하였다.

제빵의 물성실험에 사용한 밀가루는 동립산업의 강력분을, 날콩가루와 볶은 콩가루는 시판중인 미림식품 제품을 사용하였다.

효소활성 측정에 사용한 리놀레인산은 WAKO Pure Chemical 제품이었다.

실험방법

가. 탈지대두분의 조제

40g의 대두분에 5°C 아세톤 200ml를 가하고 충분히 저어준 후 진공펌프를 사용하여 여과지(Whatman No. 42)를 통해 여과하였다. 5°C 아세톤 50ml로 씻어내기를 5회 반복한 후 후드내에서 3~5시간 아세톤을 증발시켰다. 이와같이 얻은 탈지대두분을 데시케이터에 넣고 하룻밤 방치한 후 건조시키고 곱게 잘아 -15°C 이하에 저장 사용하였다.

나. Lipoxygenase의 추출

대두 lipoxygenase는 Yoon과 Klein⁽¹⁰⁾의 방법에 준하여 추출하였으며, 전 과정은 0~4°C에서 이행하였다.

탈지대두분 300g을 3,000ml의 0.05M potassium phosphate buffer(pH 6.8)에 분산시키고 overhead stirrer를 사용하여 5시간 저어준 후 17,000×g에서 15분 동안 원심분리(Hitachi Centrifuge, 20PR-5) 하여 상층액을 회수하였다. 이 상층액의 25~60% (NH₄)₂SO₄ fraction을 취해서 투석시킨 후 냉동건조하여 사용하였다.

다. 효소활성도 측정

효소활성 측정에 사용한 기질용액은 Yoon과 Klein⁽¹⁰⁾의 방법으로 준비하였다.

Lipoxygenase에 의하여 생성되는 과산화물의 양을 234nm에서의 흡광도를 UV Spectrophotometer(Hitachi Model 101)로 측정하여 매분마다 흡광도 0.001증가분을 효소활성도 1단위로 표시하였다.

라. 반죽물성 측정

실험에 사용한 시료(300g)는 다음과 같다.

S₁: 100% 밀가루

S₂: 90% 밀가루와 10% 날콩가루 복합분

S₃: 90% 밀가루와 10% 볶은콩가루 복합분

S₄: 90% 밀가루와 10% 볶은콩가루 복합분에 lipoxygenase를 첨가

S₄에 첨가한 효소의 양은 pH 6.8에서 총활성도 21×10⁶단위를 갖도록 하였으며, 이는 S₂의 날콩가루에 들어있는 총 효소 활성도의 1/2에 해당되었다.

각 시료 g당 효소활성도와 시료 S₁, S₂, S₃ 및 S₄의 총효소활성도를 Table 1과 Table 2에 나타내었다.

Table 1. Lipoxygenase activity of each sample at pH 6.8

Sample	Enzyme activity (unit/g sample)
Hard wheat flour	1.1×10 ²
Raw soy flour	1.4×10 ⁶
Toasted soy flour	2.0×10 ²
Lipoxygenase preparation	4.5×10 ⁶

Table 2. Total lipoxygenase astivity of each sample at pH 6.8

Sample*	Total enzyme activity (unit/300g sample)
S ₁	3.3×10 ⁴
S ₂	4.2×10 ⁷
S ₃	3.6×10 ⁴
S ₄	2.1×10 ⁷

* S₁: 100% wheat flour

S₂: 90% wheat flour and 10% raw soy flour

S₃: 100% wheat flour and 10% toasted soy flour

S₄: 90% wheat flour and 10% toasted soy flour with the addition of lipoxygenase preparation

결과 및 고찰

Farinograph data

밀가루와 밀가루에 콩가루를 혼합한 복합분들의 반죽시간(dough development time), mixing tolerance index(MTI), 반죽안정도 및 반죽약화도를 farinograph에서 측정한 바 Table 3과 같은 결과를 얻었다.

Table 3에서 보는 바와 같이 각 시료의 수분흡수율

Table 3. Farinograph data for wheat flour and mixed flours

Sample *	Water absorption	Arrival time	Dough development	Dough stability	Mixing tolerance index (MTI)	Dough weakening
S ₁	53.6	1.75	5.0	long	50	50
S ₂	52.9	1.75	6.75	long	20	30
S ₃	53.8	1.75	4.5	long	30	35
S ₄	53.8	1.75	6.0	long	20	15

* S₁, S₂, S₃ and S₄ were as described in Table 2.

은 밀가루 반죽(이하 S₁)이 53.6%, 날콩가루 복합분(이하 S₂)이 52.9%, 볶은콩가루 복합분(이하 S₃)과 S₄에 lipoxygenase를 첨가한 시료(이하 S₄)가 각각 53.8%로써 S₁과 S₄의 수분흡수율이 가장 높았고 날콩가루를 첨가한 S₃가 가장 낮았다.

500 Brabender Unit(B.U.)에 도달하는 데에 소요된 시간(arrival time)은 1.75분으로써 각 시료간에 차이가 없었다.

반죽시간(dough development time)은 S₁이 5.0분, S₂가 6.75분, S₃는 4.5분, S₄의 경우 6.0분이었다. S₃의 반죽시간이 4.5분으로 가장 짧았으며, S₃에 lipoxygenase를 첨가하였을 경우 S₃의 반죽시간보다는 짧았으나 S₃보다는 길어졌다.

반죽의 안정도는 500B.U.에 도달해서 500B.U.를 벗어날 때까지의 시간으로 측정하는데 본 실험에 사용한 4개의 시료는 모두 안정도가 걸어서 읽을 수 없었다.

MTI는 S₁: 50B.U., S₂가 20B.U., S₃가 30B.U.였고, S₃에 lipoxygenase를 첨가한 S₄는 S₂와 같은 수치를 나타내었다. 반죽의 약화도는 S₁이 50 B.U., S₂가 30 B.U., S₃가 35 B.U.이고 S₄가 15 B.U.이었다.

볶은콩가루 복합분이 S₃에 lipoxygenase를 첨가함으로써 반죽시간과 MTI가 날콩가루 복합분인 S₃의 반죽시간과 MTI에 같아짐을 볼 수 있었다.

Kulp 등⁽¹²⁾은 밀가루에 열처리한 탈지콩가루를 12% 첨가하였을 때 수분흡수율이 증가하고 arrival time이 변하지 않았으며 안정도와 반죽시간이 감소하였다고 보고하였다. 이것은 본 실험에서 S₃가 S₁에 비해 수분흡수율이 증가되었고, arrival time이 동일하였으며 반죽시간이 감소하였다는 점에서 유사하다고 볼 수 있다.

이상의 farinograph로 측정한 반죽물성시험 결과에서 볶은콩가루 복합분의 물성은 lipoxygenase를 첨가함으로써 반죽시간, MTI가 날콩가루 복합분의 물성과 동일해짐을 알 수 있었다.

Extensograph data

Extensograph에서 수분흡수율은 밀가루 반죽이 50.2%, 날콩가루 복합분이 47.1%, 볶은콩가루 복합분 S₃

와 S₄가 공히 51.8%로써, 날콩가루 복합분의 수분흡수율이 가장 낮고 볶은콩가루 복합분 S₃와 S₄의 수분흡수율이 가장 높았다.

Table 4. Extensograph data for Wheat flour and mixed flours¹

Sample ²	Water absorption (%)	Energy (cm ²)	Extensibility (min)	Resistance to extension (B.U.)
S ₁	50.2	160.7±5.3	18.7±1.3	470±20.0
S ₂	47.1	181.0±9.5	17.7±1.8	483.0±15.4
S ₃	51.8	191.3±2.5	12.5±1.3	923.0±6.5
S ₄	51.8	207.0±7.6	14.7±1.0	773.0±30.7

¹ mean±S. D.

² S₁, S₂, S₃, and S₄ were as described in Table 2.

각 시료의 신장력은 S₁: 18.7 min, S₂: 17.7 min, S₃: 12.5 min, S₄: 14.7 min으로써, S₁과 S₂ 사이엔 통계적으로 유의적 차이가 없었으며, S₁과 S₃, S₁과 S₄는 유의적인 차이가 있었다. 또한 S₂와 S₄, S₃와 S₄ 사이엔 유의적인 차이가 없었지만 S₃와 S₄ 사이엔 유의적인 차이가 있었다. 여기에서 S₃에 lipoxygenase를 첨가한 경우 신장력이 S₁과 유사해짐을 알 수 있었다. 이와같은 신장력의 차이는 각 시료를 제빵화 하였을 때 부피에 영향을 줄 것으로 사료된다.

김 등⁽¹³⁾은 lipoxygenase 활성이 있는 탈지대두분을 보리가루에 10%, 고구마 가루에 20%씩 첨가하였을 때 빵의 부피가 증가하였다고 보고하였다.

각 시료의 신장항력은 S₁: 470 B.U., S₂: 483 B.U., S₃: 923 B.U., S₄: 773 B.U. (Table 4)로써 S₁과 S₂, S₁과 S₄, S₂와 S₄, S₂와 S₃ 사이에는 유의적인 차이가 있었다. S₃에 lipoxygenase를 첨가할 경우 S₃의 신장항력은 S₁에 비해 유의적으로 감소함을 알 수 있었다. (유의수준 $\alpha=0.05$)

각 시료의 extensogram⁽¹⁴⁾ (energy)은 S₁: 160.7 cm², S₂: 181.0 cm², S₃: 191.3 cm², S₄: 207.0 cm²이었다.

본 연구에서 신장력과 신장항력을 동시에 고려해 볼 때, S₁의 경우 신장력이 크고 신장항력이 작아서 부피가 크고 질감이 부드러운 제빵 특성을 가질 것이며, 신장력이 가장 작고 신장항력이 가장 큰 S₃의 경우 부피가 적고 질감이 단단할 것으로 예상된다. 또한 S₂와 S₄는 S₁보다는 좀 더 나은 제빵 특성을 가질 것으로 예측된다.

Tsen과 Hlynka⁽¹⁴⁾는 lipoxygenase를 반죽에 첨가하면 lipoxygenase가 불포화지방산을 산화시키는 과정에서 유리기를 가진 중간물질이 형성되며, 이로인해 글루틴의 sulphydryl group이 산화되어 글루틴의 망상조직이 변하게 되고, 이 결과 글루틴에 결합되어 있는 지방이 유리됨으로써 반죽의 질감을 향상시키다고 하였다.

이상에서 살펴본 바와 같이 날콩가루 복합분의 반죽 불성이 볶은콩가루 복합분보다 좋다는 사실과, 볶은콩가루 복합분의 반죽불성이 lipoxygenase의 첨가로 향상되었다는 점은 lipoxygenase의 활성이 반죽의 불성에 영향을 미친다는 것을 증명해주고 있다. 또한 반죽의 pH가 6.2 정도임을 고려할 때 lipoxygenase isoenzyme 중 반죽불성에 관여하는 것은 중성에서 활성을 갖는 isoenzyme일 것으로 추측된다.

요 약

본 연구는 대두 lipoxygenase 활성이 제빵시 반죽불성에 미치는 영향을 연구한 것으로써 그 결과는 다음과 같다.

1. Farinograph에서 밀가루에 날콩가루를 첨가하였을 때 수분흡수율이 감소하고 반죽시간이 길어졌으며, mixing tolerance index(MTI)와 약화도가 감소하였다. 볶은콩 가루를 넣은 경우 수분흡수율이 증가하였고 반죽 시간은 유사하였으며 MTI와 약화도가 감소하였다. S₃에 lipoxygenase를 첨가한 S₄의 경우 수분흡수율은 S₃와 동일하였으나 반죽시간이 길어지고 MTI와 약화도가 감소하여 날콩가루 복합분의 반죽불성과 유사함을 보여주었다.

2. Extensograph에서 수분흡수율은 볶은콩가루 복합분 S₁과 S₄가 가장 커으며, 날콩가루를 넣었을 때 가장 적었다.

에너지에는 밀가루에 콩가루를 섞었을 경우 (S₂, S₃ 및 S₄) 증가하였다. 볶은콩가루 복합분에 lipoxygenase를 첨가함으로써 신장력은 유의적 증가를 하고 신장저항은

유의적인 감소를 하였다(유의수준 $\alpha=0.05$)

이상의 결과, 날콩가루를 반죽에 첨가할 때 일어나는 반죽불성의 변화는 lipoxygenase의 작용으로 생각되며, 반죽의 pH가 6.2 정도임을 고려하여 볼 때, lipoxygenase isoenzyme 중 반죽불성에 관여하는 것은 중성에서 활성을 갖는 isoenzyme일 것으로 추측된다.

문 헌

- Eskin, N. A. M., Grossman, S. and Pinsky, A. : *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **91**, 1 (1977)
- Grosch, W., Laskawy, G. and Weber, F. : *J. Agri. Food Chem.*, **24**, 456 (1976)
- Faubion, J. M. and Hoseney, R. C. : *Cereal Chem.*, **58**, 175 (1981)
- Johns, E. B., Pattee, H. E. and Singleton, J. A. : *J. Agri. Food Chem.*, **21**, 570 (1973)
- Holman, R. T., Egwim, P. O. and Christie, W. W. : *J. Biol. Chem.*, **244**, 1149 (1969)
- Frazier, P. J., Brimblecombe, F. A., Daniels, N. W. R. and Eggitt, P. W. : *J. Sci. Food Agr.*, **28**, 247 (1977)
- Daniels, N. W. R., Richmond, J. W., Eggitt, P. W. and Coppock, J. B. M. : *J. Sci. Food Agr.*, **20**, 129 (1969)
- Daniels, N. W. R., Frazier, P. J. and Wood, P. S. : *Bakers Digest*, **45**, 20 (1974)
- Daniels, N. W. R., Wood, P. S., Eggitt, P. W. and Coppock, J. B. M. : *J. Sci. Food Agr.*, **21**, 377 (1970)
- Yoon, S. and Klein, B. P. : *J. Agric. Food Chem.*, **27**, 955 (1979)
- Pomeranz, Y. : *Wheat; Chemistry and Technology*, American Association of Cereal Chemists, Inc., St. Paul, Minnesota, p. 821 (1971)
- Kulp, K., Volp, T., Barrett, F. F. and Johnson, K. : *Cereal Food World*, **25**, 609 (1980)
- 金熾洙, 金鏞揮, 禹昌命, 李瑞來 : 한국식품과학회지, **5**, 16 (1973)
- Tsen, C. C. and Hlynka, I. I. : *Cereal Chem.*, **40**, 145 (1963)