

대두 현탁액의 Lipoxygenase의 활성저해 인자들의 영향

임효식 · 조영훈 · 이종욱
전남대학교 식품공학과

Effect of Inhibitor on Lipoxygenase Inactivation in Soybean Homogenates

Hyo-Sig Im, Young-Hun Cho and Chong-Ouk Rhee

Department of Food Science and Technology, Chon-nam National University

Abstract

The effect of several inhibitors such as ascorbic acid on the lipoxygenase in soybeans known to catalyze reaction resulting in rancid off-flavors was examined in the soybean homogenates by the oxygen electrode method. Among 8 compounds added at homogenizing process, 10 mM ascorbic acid inhibited lipoxygenase-1 and lipoxygenase-2/3 activities to 41.7% and 49.8%, respectively. Inactivation of lipoxygenase-2/3 was highly accelerated by homogenization for 15 min at room temperature, so the activity was inhibited 70.8% comparing with the homogenization of 3 min. When soybean homogenates with 10 mM ascorbic acid was stored at 25°C for 72 hrs, lipoxygenase-2/3 activities lowered to 52.8% whereas L-1 activities lowered to 15.8%. Since it is reported that lipoxygenase-2 is responsible for the off-flavor of soybean products, the inhibitory effect of ascorbic acid among several inhibitors investigated might be useful in soybean processing.

Key words: soybean, lipoxygenase activity

서 론

대두 가공시 품질상 가장 큰 문제는 off-flavor로서 콩비린 냄새(beany), 곰팡이 냄새(mustry), 날콩 냄새(green beany), 산패 냄새(rancid) 낫 풀 냄새(grassy) 등으로 표현되는 냄새와 콩비린 맛(beany), 쓴 맛(bitter) 및 떫은 맛(astringent) 등으로 표현되는 불쾌한 맛이다. 이러한 이취미를 주는 화합물은 휘발성 알코올류, 알데히드류, 케톤류, 에스테르류, 아민류 및 페놀류 등으로서 대두를 침지·마쇄 하는 과정에서 lipoxygenase의 작용에 의하여 생성되는 것으로 알려져 있다^(1,2).

Lipoxygenase(E.C. 1,13,11,12)는 산소 존재시 *cis,cis*-1,4-pentadiene 구조를 가진 불포화 지방산의 산화를 촉매하는 산화 효소⁽³⁻⁵⁾로서 여러 종류의 식물 열매 및 채소류에 분포되어 있고 특히 두류에 많이 존재⁽⁶⁾한다. 또한 lipoxygenase는 lipoxygenase-1(이하 L-1), -2 (L-2) 및 -3 (L-3)의 isozyme⁽²⁾이 있는데, 이들 중 lipoxygenase-2와 -3가 off-flavor의 형성과 가장 밀접한 관련이 있다고 한다⁽⁷⁻⁹⁾. 따라서 이들 효소 작용을 억제하기 위한 여러 가지 처리 방법들이 제안되어 왔는데 미리 침지시킨 대두를 가열처리 함으로써 lipoxygenase 를 불활성화

시킬 수 있었다는 여러 보고^(10,11)들이 있다. 그 중 Borhan 등⁽¹²⁾은 40~60°C 에서 ethanol에 대두를 2~4시간 침지 하면 lipoxygenase를 파괴하는 데 충분하다고 하였으며, Engeseth 등⁽¹³⁾은 116°C 에서 1분간 증기 가열시 L-2 및 L-3 활성이 거의 나타나지 않고 기호성도 좋다고 하였다. Brown 등⁽¹⁴⁾은 pH 9.8의 완충용액에 침지한 대두를 91°C 또는 그 이상으로 10초 동안 증기 가열시 lipoxygenase가 99% 불활성화 되었다고 하였다.

Wang 등⁽¹⁵⁾은 대두를 microwave로 가열시 lipoxygenase가 완전히 불활성화 되었으며 하 등⁽¹⁶⁾은 대두를 발아 및 데치기하여 만든 두유의 *n*-hexanal 함량이 처리하지 않은 경우보다 1/10로 감소하였고 기호성도 좋다고 하였다. Ediriweera 등⁽¹⁷⁾은 대두를 pH 8.5인 용액으로 3~4시간 침지하여 60°C 에서 20,000 rpm으로 15~30분간 교반하였을 때 불활성화 되었다고 하였다.

발효에 의한 방법으로 방향성 물질을 생성시켜 대두 식품의 풍미를 증가시킬 수 있고 텍스처를 개선할 수 있다고 하였으며^(18,19) 특히 고 등^(20,21)은 발효에 의해 향미를 조화시킴으로써 이취미를 줄일 수 있을 것이라고 하였다. Kim 등⁽²²⁾은 마늘 추출물이, Hwang 등⁽²³⁾은 *Penicillium* sp.로부터 생성된 저해 물질에 의해 lipoxygenase 활성이 저해된다고 하였으며, L-1 또는 L-2/3의 유전자가 없는 새로운 대두품종을 육종함으로써 이취미를 개선시키려는 Kitamura 등^(24,25)의 연구도 있다.

본 연구에서는 lipoxygenase 분자가 수용액 중에서

Corresponding author: Chong-Ouk Rhee, Department of Food Science and Technology, Chon-nam National University, Kwang-ju 500-757, Korea

풀어지거나(unfolding) 저해 물질의 영향으로 lipoxygenase 작용이 저해받아 이 효소에 의해 생성될 수 있는 이취미를 감소시킬 수 있을 것이라는 생각으로, 대두를 마쇄할때 저해 물질을 첨가한 현탁액의 lipoxygenase 활성에 미치는 저해 물질의 영향을 분석하였다. 또한 저해 물질을 첨가한 현탁액의 교반 시간을 길게 하였을 때 lipoxygenase 활성에 미치는 영향을 분석하였으며, 이들 현탁액에 함유된 lipoxygenase 활성의 안정성을 관찰하였다.

재료 및 방법

실험 재료

본 실험에 사용한 재료는 1992년도에 수확한 대두(*Glycine max* L.)로서 전남지역에서 장려품종으로 되어 있는 단원콩, 만리콩이며 전라남도 농촌진흥원에서 분양 받았다. 또한 (주)정식품에서 두유가공의 원료로 쓰이는 수입콩(*Amsoy*)을 실험재료로 하였다. 외관상 이상이 없는 것을 정선하여 시료병에 넣어 $4 \pm 1^\circ\text{C}$ 로 저장하면서 계속되는 실험에 사용하였다.

조효소액의 조제

대두 종자를 비이커에 넣어 증류수로 씻어내고 2.5배의 증류수를 가한 후 25°C 에서 12시간 침지시킨 후, 종피와 배축을 제거하고 자엽을 취하였다. 여지를 이용하여 표면에 묻어있는 수분을 닦아낸 자엽 3g에 각종 저해 물질 용액 100 ml를 가하여(대조구는 증류수 100 ml), 18,000 rpm(Nissei AM Homogenizer, Japan)으로 3분간 마쇄한 후 가세(5겹)로 여과한 액을 조효소액으로 사용하였다⁽²⁶⁾.

각종 저해 물질의 영향 및 효소 활성의 안정성

실험에 사용한 저해제로는 1, 5 및 10 mM의 calcium chloride dihydrate, calcium phosphate monobasic, L-cysteine, DL-dithiothreitol, EDTA-disodium-calcium salt, L-ascorbic acid, tilon(4,5-dihydroxy-1,3-benzene-disulfonic acid), 및 *o*-phenanthroline을 사용하였으며 이들 시약은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, U.S.A.)로부터 구하였다. 이들 저해 물질이 lipoxygenase 효소 활성에 미치는 영향을 분석하였는데 3번 반복하여 평균값으로 하였으며, 이 중 일부는 4°C 와 25°C 에서 6~72시간 동안 보관하면서 효소 활성의 안정성을 관찰하였다.

pH의 영향

pH 6.0, 6.5 및 7.0으로 조정된 0.1 M phosphate buffer를 사용하여 효소 활성에 미치는 pH의 영향 및 가용성 단백질 량을 분석하였다.

교반 시간의 영향

저해제를 첨가한 조효소액을 homogenizer를 사용하여 실온에서 18,000 rpm으로 3~15분간 교반하여 효소 활

성에 미치는 교반의 영향을 분석하였다.

Lipoxygenase 효소 활성의 측정을 위한 기질의 조제

L-1 활성 측정용 기질로 10 mM linoleic acid(Sigma Chemical Co., St. Louis)/0.2 M Tris-HCl buffer(pH 9.0)을 희석하여 사용하였는데, 50 ml 삼각 플라스크에 70 mg의 linoleic acid를 칭량한 후, 여기에 동량의 tween 20을 가하였다. 초음파(Branson Cleaner, Branson Cleaning Equipment Co., Sheiton, U.S.A.)로 균질화시키면서 0.2 M Tris-HCl buffer(pH 9.0) 25 ml를 세 번 나누어 기포가 생기지 않도록 조심스럽게 가하였다. 이것을 1.2 ml의 vial에 1 ml씩 취해 질소 충전하여 냉동(-20°C) 보관하였다. L-2/3 활성 측정용 기질로는 10 mM linoleic acid/0.2 M phosphate buffer(pH 7.0)를 희석하여 사용하였으며 위와 같은 방법으로 조제하였다^(4,26).

산소 전극법(oxygen electrode method)에 의한 효소 활성의 측정

L-1 활성 측정은 1 mM linoleic acid/0.2 M Tris-HCl buffer(pH 9.0), L-2/3 활성 측정은 1 mM linoleic acid/0.2 M phosphate buffer(pH 7.0)를 기질로 사용하였다. 산소 전극 시스템(Digital Oxygen System Model 10, Rank Brothers, England)의 vessel에 2 ml의 기질을 넣고 교반하면서 자동 온도 조절 장치를 이용하여 25°C 로 조절한 다음 조효소액 0.01 ml를 가한 후, 1분간 산소 소비량을 측정하였다. 이 때 기질에 용존되어 있는 산소량은 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 를 소량 첨가하여 측정하였는데 25°C 에서 수용액 1 ml당 용존된 산소의 양은 $258 \mu\text{M}$ 로 하여, 다음과 같은 식으로 활성 unit를 계산하였다^(17,27,28,29).

$$\text{Activity unit} = \frac{\text{height of peak(sample)}}{\text{height of peak}(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4)} \times 258$$

가용성 단백질의 정량

조효소액을 증류수로 2~20배 희석하여 $13000 \times \text{g}$ 로 3분간 원심분리(Model J2-21 Centrifuge, Beckman Instruments, England)하여 상징액의 가용성 단백질을 Lowry법으로 비색 정량하였다^(30,31,32).

결과 및 고찰

pH의 영향

대두에 pH 6.0, 6.5 및 7.0으로 조정된 0.1 M phosphate buffer를 첨가하여 homogenizer로 균질화시킨 현탁액의 lipoxygenase-1(L-1), lipoxygenase-2,3(L-2/3)의 활성 및 가용성 단백질을 분석한 결과는 Table 1과 같다.

pH 6.5에서 단원콩의 경우 L-1 활성은 52.1 unit이고 L-2/3 활성은 30.2 unit이었다. 그러나 pH가 저하하면 활성이 떨어져서 pH 6.0에서는 L-2/3 활성이 27.5 unit이었다. 가용성 단백질은 세품종 모두 pH 7.0에서 가장

Table 1. Effect of pH on lipoxygenase activity and soluble protein in soybean homogenates

Varieties	pH	L-1 (unit)	L-2/3 (unit)	Soluble protein (mg/ml)
<i>Danweon</i>	6.0	52.1	27.5	1.58
	6.5	52.1	30.2	1.70
	7.0	49.8	32.4	3.25
<i>Malry</i>	6.0	46.2	22.5	1.40
	6.5	49.4	25.0	1.58
	7.0	46.2	27.5	3.00
<i>Amsoy</i>	6.0	54.0	24.4	1.10
	6.5	57.1	25.4	1.45
	7.0	55.2	27.9	2.31

Table 2. Effect of several inhibitors with different concentration on lipoxygenase in soybean(*Danweon*) homogenate (unit : %)

Inhibitors	L-1			L-2/3		
	1mM	5mM	10mM	1mM	5mM	10mM
control	100	100	100	100	100	100
calcium chloride	101.1	90.0	84.9	88.5	74.3	71.1
calcium phosphate	94.5	87.7	79.0	83.4	73.5	72.3
L-cysteine	90.7	75.9	63.5	139.9	137.9	132.0
DL-dithiothreitol	82.4	76.1	70.8	111.5	83.0	52.6
EDTA disodium -calcium salt	88.4	88.8	86.2	137.5	111.1	108.7
L-ascorbic acid	81.8	70.1	58.3	100.0	91.3	50.2
tilon	84.3	75.8	71.4	115.0	103.2	93.3
<i>O</i> -phenanthroline	97.2	92.6	90.0	126.9	150.2	180.2

많았으나 pH가 저하될 수록 가용성 단백질이 감소되었다. 이것은 Monma 등⁽²⁶⁾이 pH 저하에 대해 lipoxygenase 활성 및 가용성 단백질이 매우 민감하다고 보고한 바와 같이, pH가 저하됨에 따라 가용성 단백질이 변성·침전되어 lipoxygenase 활성의 감소를 초래한 것으로 생각된다.

효소 활성에 미치는 각종 저해 물질의 영향

단원콩에 1, 5 및 10 mM의 calcium chloride, calcium phosphate, L-cysteine, DL-dithiothreitol, L-ascorbic acid, EDTA-CaNa₂, tilon 및 *o*-phenanthroline를 첨가한 현탁액에서의 효소 활성의 저해 효과는 Table 2와 같다.

L-cysteine의 경우, L-1 활성은 저해제의 농도가 증가할수록 활성이 낮아져서 10 mM의 경우 대조구에 비해 63.5%이었다. 이러한 결과는 Monma 등⁽²²⁾이 활성 억제 효과를 거의 보이지 않았다고 보고한 것과 대조되는 경향을 보였으나 L-2/3 활성은 농도에 관계없이 130% 이상으로 높은 활성을 나타내었다.

DL-dithiothreitol의 경우 저해제의 농도에 따라 활성에 큰 차이를 보여서 농도가 1 mM 일때 L-2/3 활성이 111.5

Table 3. Effect of calcium phosphate and L-ascorbic acid on lipoxygenase activities and soluble protein in soybean homogenates

Varieties	Inhibitors	L-1 (unit)	L-2/3 (unit)	Soluble protein (mg/ml)
<i>Danweon</i>	control	52.8	25.3	5.88
	10 mM calcium phosphate	41.7	18.3	0.83
	10 mM L-ascorbic acid	30.8	12.7	1.31
<i>Malry</i>	control	49.1	26.3	5.50
	10 mM calcium phosphate	41.1	16.8	0.62
	10 mM L-ascorbic acid	30.0	9.0	1.05
<i>Amsoy</i>	control	55.7	24.5	5.50
	10 mM calcium phosphate	41.7	14.4	0.53
	10 mM L-ascorbic acid	30.0	6.4	0.94

%이나 10 mM 일때는 52.6%의 활성을 나타내었다. 이러한 결과는 대두 lipoxygenase가 4개의 SH기와 2개의 SS 결합을 가져, SH 봉쇄제 및 SS 환원제에 의해 활성이 억제된다는 보고^(4,33,34)와 일치되는 경향이었다.

Calcium phosphate와 같은 칼슘염도 농도가 증가할수록 저해효과가 나타나서 L-2/3 효소의 경우 10 mM 일때 72.3%의 활성을 나타내었는데 Zimmerman 등⁽³⁵⁾이 Ca²⁺의 첨가가 활성을 증가시켰다고 보고한 것과 대조적인 결과를 보였다.

Tilon 및 *o*-phenanthroline과 같은 금속 chelator의 경우, L-1 활성은 칼슘염과 비슷한 경향을 보였으나 L-2/3 활성에 있어서는 다른 경향을 보여 주고 있다. Tilon을 첨가하였을 경우에는 농도 증가에 따라 활성이 떨어졌으나 *o*-phenanthroline의 경우는 10 mM에서 대조구에 비해 180%의 활성 상승작용을 보였다. 이러한 이유는 L-1에 Fe²⁺ 및 Fe³⁺이 함유되어 있어서 *o*-phenanthroline-Fe²⁺ 및 tilon-Fe³⁺의 복합체를 형성하지만, L-2/3에는 Fe³⁺만이 함유되어 *o*-phenanthroline이 Fe²⁺ chelator로서 작용하지 못하는 까닭⁽³⁶⁾이라고 생각된다. 그렇지만 이것을 제외한 대부분의 금속 chelator 및 칼슘염은 lipoxygenase 활성을 억제시켰다는 보고⁽³⁷⁻³⁹⁾와 일치되었다.

L-ascorbic acid의 경우, L-1 활성은 대조구에 비해 10 mM에서 58.3%를, L-2/3 활성은 50.2%를 보여 본 실험에서 사용된 저해 물질 중 가장 저해 작용이 강하였다.

대두 품종에 따르는 저해제의 영향

단원콩, 만리콩, *Amsoy*의 세 대두 품종에 대한 10 mM

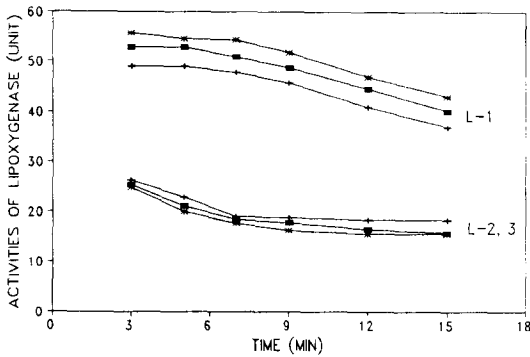


Fig. 1. Effect of homogenization time on lipoxigenase activity of soybean homogenates soaked in water and homogenized at room temperature

■—■; *Danweon*, +—+; *Malry*, *—*; *Amsoy*

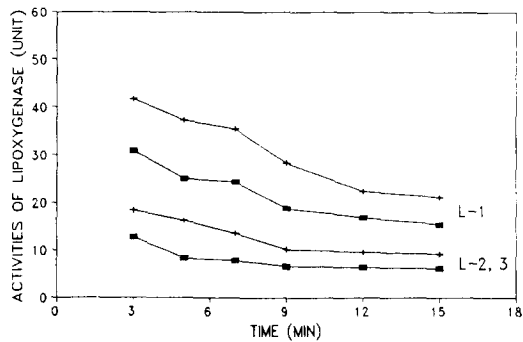


Fig. 2. Effect of inhibitors and homogenization time on lipoxigenase activity of soybean(*Danweon*) homogenate

■—■; L-Ascorbic acid, +—+; Calcium phosphate

calcium phosphate와 ascorbic acid의 효소 활성의 저해 효과를 실험한 결과를 Table 3에 나타내었다. L-1 활성은 세품종 모두 10 mM calcium phosphate의 경우는 약 41 unit를 나타내었으며, 10 mM L-ascorbic acid의 경우는 30.0 unit를 나타내어 전자가 저해효과가 큼을 알 수 있다.

L-2/3 활성은 10 mM calcium phosphate의 경우 단원콩, 만리콩 및 *Amsoy* 각각 18.3, 16.8 및 14.4 unit를 나타냈으나, 10 mM L-ascorbic acid의 경우 단원콩, 만리콩 및 *Amsoy* 각각 12.7, 9.0 및 6.4 unit를 나타내어 품종별로 저해 작용의 차이가 컸다. 10 mM L-ascorbic acid의 경우는 10 mM calcium phosphate의 경우에 비해 단원콩, 만리콩 및 *Amsoy* 각각 72%, 53% 및 43% 정도 활성이 낮았는데 가용성 단백질함량이 단원콩, 만리콩 및 *Amsoy* 순으로 나타나 L-2/3 활성과 밀접한 관련이 있음을 나타내고 있다.

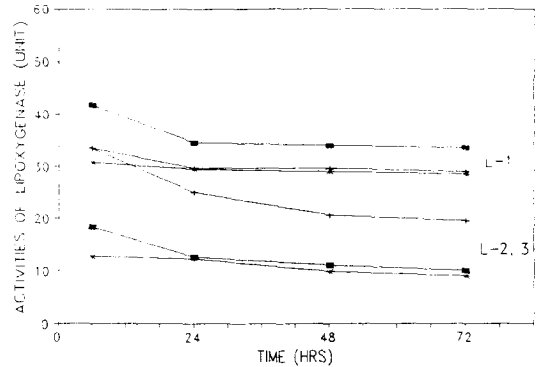


Fig. 3. Effect of storage time at 4°C on lipoxigenase activity in soybean(*Danweon*) homogenate with inhibitors

■—■; Calcium phosphate, +—+; L-Cystene, *—*; L-Ascorbic acid

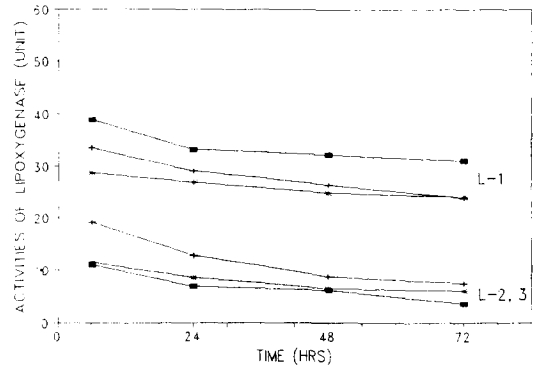


Fig. 4. Effect of storage time at 25°C on lipoxigenase activity in soybean(*Danweon*) homogenate with inhibitors

■—■; Calcium phosphate, +—+; L-Cystene, *—*; L-Ascorbic acid

교반 시간의 영향

Lipoxigenase 활성에 대한 교반의 영향은 Fig. 1과 같다. 단원콩의 경우 L-1 활성은 3분간 교반했을 때에 53 unit를 나타낸 것에 비해 15분간 교반했을 때 40 unit를 나타내어 75%를 나타내었으며, 만리콩 및 *Amsoy*도 비슷하였다. 이것은 5 mM L-cysteine, DL-dithiothreitol 및 tilon을 첨가한 경우와 저해 작용이 비슷한 효과이었다. 단원콩의 경우 L-2/3 활성은 3분간 교반했을 때 25 unit를 나타낸 것에 비해 15분간 교반했을 때에 16 unit를 나타내어 62%를 보였으며, 만리콩 및 *Amsoy*는 각각 70% 및 63%를 나타내었다. 이것은 5 mM의 각종 저해 물질을 첨가한 경우보다 저해 작용이 높은 결과를 나타낸다.

이러한 교반의 영향은 Monma 등⁽³³⁾이 보고한 바와

같이, lipoxygenase는 교반에 의해 unfolding하여 분자간 SS 결합이 다른 결합으로 중합·침전하여 활성이 저해 되는 것으로 생각된다.

저해 물질과 교반의 영향

단원콩에 저해 효과가 분명하다고 판단되는 10 mM calcium phosphate 및 10 mM L-ascorbic acid를 첨가한 현탁액을 교반하여 저해 작용의 상승 효과를 관찰하였다 (Fig. 2). 10 mM calcium phosphate의 경우, L-1 활성은 3분간 교반했을 때에 42 unit를 나타낸 것에 비해 15분간 교반했을 때에 21 unit를 나타냈으며, L-2/3 활성은 3분간 교반했을 때에 18 unit를 나타낸 것에 비해 15분간 교반했을 때에 9 unit를 나타내어 3분간 교반했을 때에 비해 15분간 교반했을 때에 각각 50%의 활성을 나타냈다.

10 mM L-ascorbic acid의 경우, L-1 활성은 3분간 교반했을 때에 31 unit를 나타낸 것에 비해 15분간 교반했을 때에 15 unit를 나타내어 3분간 교반했을 때에 비해 15분간 교반했을 때에 48%를, L-2/3 활성은 3분간 교반했을 때에 13 unit를 나타낸 것에 비해 15분간 교반했을 때에 6 unit를 나타내어 3분간 교반했을 때에 비해 15분간 교반했을 때에 46%를 나타냈다. 이것은 저해 작용에 대한 교반의 상승 효과로 생각된다.

효소 활성의 안정성

단원콩에 10 mM의 calcium phosphate, L-cysteine 및 L-ascorbic acid를 첨가한 현탁액을 4°C 및 25°C 에서 보관하여 시간 경과에 따른 lipoxygenase 활성의 안정성을 관찰하였다(Fig. 3~4).

4°C 에서 72시간 보관하여 측정 한 L-1 활성은 10 mM calcium phosphate, 10 mM L-cysteine 및 10 mM L-ascorbic acid를 첨가한 현탁액은 6시간 보관한 것에 비해 각각 80%, 87% 및 93%를 유지하였으며, L-2/3 활성은 6시간 보관한 것에 비해 각각 55%, 59% 및 71%를 유지하여 L-1 보다 L-2/3 활성이 시간 경과에 따라 활성이 더 감소함을 나타냈다. 25°C 에서 72시간 보관하여 측정 한 L-1 활성은 10 mM calcium phosphate, 10 mM L-cysteine 및 10 mM L-ascorbic acid를 첨가한 현탁액은 6시간 보관한 것에 비해 각각 80%, 71% 및 83%를 유지하였으며, L-2/3 활성은 6시간 보관한 것에 비해 각각 33%, 40% 및 52%를 유지하여 25°C 에서 L-1보다 L-2/3 활성이 시간 경과에 따라 활성이 더 감소함을 나타냈다.

따라서 보관온도를 달리하였을 경우 L-ascorbic acid를 첨가하였을 때는 활성에 있어서 큰 차이를 나타내지 않았으나 calcium phosphate나 L-cysteine을 첨가한 현탁액의 L-2/3 활성은 온도가 높아지면 활성이 급격히 떨어져 저해효과가 더욱 커짐을 알 수 있었다.

대두에 함유된 lipoxygenase 효소가 수용액중에서 ascorbic acid 등 각종 저해제의 영향으로 효소 작용이 저해받아서 이 효소에 의해 발생할 수 있는 이취미(off-flavor)를 감소시킬 목적으로 미리 침지시킨 대두를 이들 저해물질의 수용액중에서 균질화시킨 후 lipoxygenase 활성의 저해효과를 산소 전극법에 의해 분석하였다. 10 mM의 ascorbic acid를 첨가한 경우 L-1 효소는 대조구에 비해 41.7%의 저해효과를 나타내었으나 L-2/3 효소는 49.8%의 저해효과를 보였다. 균질화 시키기 위하여 교반 시간을 15분까지 하였을 때에는 3분간 처리하였을 때 보다 L-2/3 효소의 경우 70.8%의 저해를 보여 교반에 의한 저해 상승 효과를 나타내었다. 25°C 에 72시간 방치하였을 때 효소 활성의 안정성을 검토한 결과 L-2/3 효소의 경우 52.8%의 활성이 떨어졌으나 L-1 효소는 15.8%만 떨어졌으며, 4°C 에서는 비교적 안정하였다. SH기 봉쇄제, SS 환원제, 항산화제 및 금속 chelator 등 각종 저해제 중에서 L-ascorbic acid가 대두 이취미 생성의 주요인자라고 알려져 있는 L-2/3 효소 활성의 억제에 가장 효과적이라고 판단되었다.

감사의 글

이 논문은 1993년도 한국학술진흥재단의 자유공모과제 연구비에 의하여 지원되었으며 이에 감사드립니다.

문헌

1. Wolf, W.J.: Lipoxygenase and flavor of soybean protein products. *J. Agric. Food Chem.*, **23**, 136 (1975)
2. Grosch, W. and Laskawy, G.: Differences in the amount and range of volatile carbonyl compounds formed by lipoxygenase isozymes from soybeans. *J. Agric. Food Chem.*, **23**, 791 (1975)
3. Tappel, A.L.: Enzyme of lipid metabolism (lipoxydase), *Method in Enzymol.*, **5**, 539 (1961)
4. Axelrod, B., Cheesbrough, T.M. and Laakso, S.: Lipoxygenase from soybeans. *Method in Enzymol.*, **71**, 441 (1981)
5. Hildebrand, D.F. and Kito, M.: Role of lipoxygenases in soybean seed protein quality. *J. Agric. Food Chem.*, **32**, 815 (1984)
6. Pinsky, A., Grossman, S. and Trop, M.: Lipoxygenase content and antioxidant activity of some fruits and vegetables. *J. Food Sci.*, **36**, 571 (1971)
7. Matoba, T., Hidaka, H., Narita, H., Kitamura, K., Kaizuma, N. and Kito, M.: Lipoxygenase-2 isozyme is responsible for generation of *n*-hexanal in soybean homogenate. *J. Agric. Food Chem.*, **33**, 852 (1985)
8. Hildebrand, D.F., Hamilton-Kemp, T.R., Loughrin, J.H., Ali, K. and Andersen, R.A.: Lipoxygenase 3 reduces hexanal production from soybean seed homogenates. *J. Agric. Food Chem.*, **38**, 1934 (1990)
9. Matoba, T., Hidaka, H., Kitamura, K., Kaizuma, N. and Kito, M.: Contribution of hydroperoxide lyase activity

- to n-hexanal formation in soybean. *J. Agric. Food Chem.*, **33**, 856 (1985)
10. Khaleque, A., Bannatyne, W.R. and Wallace, G.M.: Studies on the processing and properties of soymilk (Effect of preprocessing conditions on the flavor and composition of soymilks). *J. Sci. Food Agric.*, **21**, (1970)
 11. 오세준, 이규희, 이원용, 이가순, 오만진: 대두의 alkali 처리가 두유의 품질에 미치는 영향. *한국영양식량학회지*, **17**, 85 (1988)
 12. Borhan, M., and Snyder, H.E.: Lipoxigenase destruction in whole soybeans by combinations of heating and soaking in ethanol. *J. Food Sci.*, **44**, 586 (1979)
 13. Engeseth, N.J., Klein, B.P. and Warner, K.: Lipoxigenase isozymes in soybeans. *J. Food Sci.*, **52**, 1016 (1987)
 14. Brown, B.D., Wei, L.S., Steinberg, M.P. and Villota, R.: Minimizing protein insolubilization during thermal inactivation of lipoxigenase in soybean cotyledons. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **59**, 88 (1982)
 15. Wang, S.H. and Toledo, M.C.F.: Inactivation of soybean lipoxigenase by microwave heating (Effect of moisture content and exposure time). *J. Food Sci.*, **52**, 1344 (1987)
 16. 하상도, 김정수, 박철수, 김병목: 대두의 데치기와 발아가 두유의 품질에 미치는 영향. *한국식품과학회지*, **23**, 485 (1991)
 17. Ediriweera, N., Akiyama, Y. and Saio, K.: Inactivation of lipoxigenase in soybean with retention of protein solubility. *J. Food Sci.*, **52**, 685 (1987)
 18. Wang, H.L., Kraidie, K. and Hesseltine, C.W.: Lactic acid fermentation of soybean milk. *J. Milk Food Technol.*, **37**, 71 (1974)
 19. Printhong, R., Macrae, R. and Rothwell, J.: The development of a soya-based yoghurt; Acid production by lactic acid bacteria. *J. Food Technol.*, **15**, 647 (1980)
 20. 고영태: 두유의 가열처리가 젖산균의 산생성과 대두요구르트의 품질에 미치는 영향. *한국식품과학회지*, **20**, 317 (1988)
 21. 문승애, 김영배, 고영태: 두유에서 젖산균의 생육과 대두요구르트의 향미. *한국식품과학회지*, **18**, 118 (1986)
 22. Kim, M.R., Mo, E.K., Kim, S.H. and Sok, D.E.: Inhibition of lipoxigenase activity by the extract of various processed garlic (Inhibitory effect of garlic extracts on soybean lipoxigenase activity). *J. Kor. Soc. Food Nutr.*, **22**, 280 (1993)
 23. Hwang, J.S., Jeong, Y.K. and Lee, T.H.: Purification and characterization of lipoxigenase inhibitor produced *Penicillium* sp., *J. Kor. Soc. Food Nutr.*, **22**, 833 (1993)
 24. Kitamura, K.: Biochemical characterization of lipoxigenase lacking mutants L-1-less, L-2-less and L-3-less soybeans. *Agri. Biol. Chem.*, **48**, 2339 (1984)
 25. Matoba, T., Hasegawa, K., Kitamura, K. and Kito, M.: Food composition and emulsifying activity of lipoxigenase deficient mutant soybeans. *Agri. Biol. Chem.*, **50**, 2659 (1986)
 26. Monma, M., Sugimoto, T., Hashizume, K. and Saio, K.: Effect of several lipoxigenase inhibitors on lipoxigenase activities in soybean homogenate. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **37**, 625 (1990)
 27. 河合清三: Clark の 酸素電極 (その反應ととり扱い方法). *蛋白質 核酸 酵素*, Japan, **13**, 599 (1968)
 28. 東京化學同人: 酵素研究法 上 (生化學 實驗講座 5). 日本生化學會, p.43 (1975)
 29. Robinson, J. and Cooper, J.M.: Method of determining oxygen concentrations in biological media, suitable for calibration of the oxygen electrode. *Anal. Biochem.*, **33**, 300 (1970)
 30. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.: Protein estimation by the Folin-Lowry methods. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 (1951)
 31. Bollag, D.M. and Edelman, S.J.: Protein methods, Wiley-Liss, U.S.A., p.56 (1991)
 32. 한국생화학회 교재편찬위원회: *신관실험생화학*, 탐구당, 서울, p.256 (1991)
 33. Monma, M., Fuchu, H., Sugimoto, T., Hashizume, K. and Saio, K.: Inactivation mechanism of soybean lipoxigenase. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **34**, 143 (1987)
 34. Stevens, F.C., Brown, D.M. and Smith, E.L.: Some properties of soybean lipoxigenase. *Arch. Biochem. Biophys.*, **136**, 413 (1970)
 35. Zimmerman, G.L. and Snyder, H.E.: Role of calcium in activating soybean lipoxigenase-2. *J. Agric. Food Chem.*, **22**, 802 (1974)
 36. Pistorius, E.K. and Axelrod, B.: Iron (an essential component of lipoxigenase). *J. Biol. Chem.*, **249**, 3183 (1974)
 37. Ben-Aziz, A., Grossman, S., Ascarelli, I. and Budowski, P.: Linoleate oxidation induced by lipoxigenase and heme proteins (a direct spectrophotometric assay). *Anal. Biochem.*, **34**, 88 (1970)
 38. Roza, M. and Francke, A.: Soybean lipoxigenase (an iron-containing enzyme). *Biochim. Biophys. Acta*, **327**, 24 (1973)
 39. Chan, H.W.-S.: Soya-bean lipoxigenase (an iron-containing dioxygenase). *Biochim. Biophys. Acta*, **327**, 32 (1973)

(1994년 8월 3일 접수)