

大豆たん白質製品中のヘキサナル生成とその抑制に関する因子

DEPRESSION OF *n*-HEXANAL FORMATION IN SOY PROTEIN PRODUCTS

鬼頭 誠・高村仁知（京都大学食糧科学研究所）

Makoto KITO and Hitoshi TAKAMURA

Research Institute for Food Science, Kyoto University, Uji 611

ABSTRACT

Soybean seeds contain three lipoxygenase isozymes. The functions of these lipoxygenase isozymes in *n*-hexanal generation were investigated by using mutant lines which lack two or three isozymes. In the presence of linoleic acid, the level of *n*-hexanal produced was highest in the lipoxygenase-1, -3 double deficient line, followed by the lipoxygenase-2, -3 double deficient, wild type, and lipoxygenase-1, -2, -3 triple deficient lines in that order, and lowest in the lipoxygenase-1, -2 double deficient line. This suggests that lipoxygenase-3 itself cannot produce the *n*-hexanal precursor and inhibits the *n*-hexanal generation through other pathways. *Nutr. Sci. Soy Protein, Jpn.* **13**, 12-14, 1992.

大豆たん白質は経済性、栄養性及び機能性の点から非常に重要な食糧たん白質資源である。しかし、不快臭がその広範な利用の障害となっている。不快臭を構成する主要な成分の1つにヘキサナルがある。一般に、大豆に多量に存在するリノール酸がリポキシゲナーゼによりヒドロペルオキシドに転換され、さらにこれがヒドロペルオキシドリナーゼにより解裂を受けてヘキサナルが生成する^{1,2)}。大豆中にはリポキシゲナーゼの3種のアイソザイム(L-1, L-2, L-3)が存在している。そして、そのうちL-2が大豆におけるヘキサナル生成に主導的役割を果たしていることを明らかにしてきた¹⁾。しかし、他のアイソザイムL-1, L-3の役割は明確でない。

本研究ではL-3がヘキサナル生成にむしろ抑制的に作用することについて報告する³⁾。

材料と方法

リポキシゲナーゼアイソザイムを欠損する変異体は、農水省農研センター喜多村啓博博士より供与された。大豆ホモジネートは既報の方法によって調製した¹⁾。

Table 1. Lipoxygenase activities of soybean mutant lines

Soybean	Lipoxygenase activity $\Delta 234 \text{ nm/min/mg protein}$	
	pH 6.5	pH 9.5
Wild type	11.90 $\pm$ 0.33 ^a	19.40 $\pm$ 0.68
L-1, -2, -3 deficient	0.10 $\pm$ 0.05	0.33 $\pm$ 0.10
L-2, -3 deficient	1.75 $\pm$ 0.13	18.93 $\pm$ 2.28
L-1, -3 deficient	8.38 $\pm$ 0.10	0.38 $\pm$ 0.03
L-1, -2 deficient	0.53 $\pm$ 0.10	0.10 $\pm$ 0.03

Mature seeds were stored for measurement of lipoxygenase activity after storage for 5-7 days in a desiccator. Crude seed extracts were prepared by homogenizing 50 mg tissue in 2.5 mL 50 mM Tris-HCl buffer, pH 8.0, containing 20 mM CaCl₂ with a mortar and pestle at 4°C. The homogenate was centrifuged at 10000 $\times$ g for 5 min. The supernatant was used within 1 h. Lipoxygenase activity was determined by measurement of formation of conjugated dienes at 234 nm. The assay was performed in the presence of 2.5 mM linoleic acid with 100 mM phosphate buffer (pH 6.5) for L-2 and L-3 activities or 100 mM borate buffer (pH 9.5) for L-1 activity.

^aValues are means $\pm$ SD (n=3).

ヘキサナールは2, 4-ジニトロフェニールヒドラゾン誘導体として HPLC で定量した¹⁾。

結果と考察

種々の大豆リポキシゲナーゼ変異体中のリポキシゲナーゼアイソザイムの欠損性を, SDS-ポリアクリルアミド電気泳動法によって分析した (Fig. 1)。ここに示すように, 全欠 (lane 2), L-1 のみ (lane 3), L-2 のみ (lane 4) 及び L-3 のみ (lane 5) の変異体を得ることができた。

これらの変異体のホモジネートを用いてリポキシゲナーゼ活性を調べた (Table 1)。野生大豆に比して全欠大豆ではリポキシゲナーゼ活性はほとんどみられなかった。そして, L-3 大豆においてもその活性は極めて低かった。ついで, これらの大豆のホモジネートによるヘキサナール生成を調べた (Table 2)。外部からリノール酸を加えない場合は, ヘキサナール生成は野

生大豆及び L-2 大豆においてのみみられたが, その生成量は L-2 大豆の方が野生大豆よりも多かった。このことは L-1 または L-3 がヘキサナール生成に対して抑制的に作用していることを示唆している。次に外部か

Table 2. n-Hexanal generation in soybean homogenates lacking lipoxygenase isozymes in the absence and presence of linoleic acid

Soybean	n-Hexanal generation nmol/mg protein	
	-18:2 ^a	+18:2
Wild type	1.34±0.06 ^b	2.03±0.24
L-1, -2, -3 deficient	0.14±0.09	1.41±0.05
L-2, -3 deficient	0.15±0.01	3.56±0.74
L-1, -3 deficient	1.86±0.35	6.31±0.66
L-1, -2 deficient	0.14±0.03	0.37±0.03

^a18:2, linoleic acid.

^bValues are means±SD (n=3).

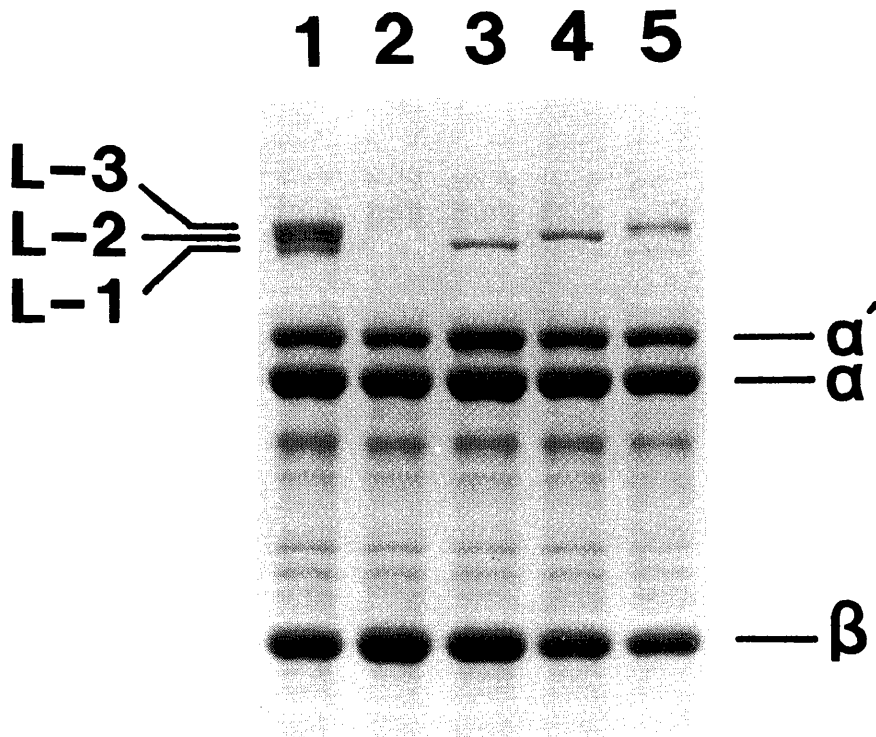


Fig. 1. Resolution of the lipoxygenase isozymes in soybean seeds by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis. Lane 1, cv. Suzuyutaka (Wild type); lane 2, a line (M₅) lacking all three lipoxygenase isozymes; lane 3, a line (Kanto No. 101) lacking L-2 and L-3; lane 4, a line (Kanto No. 102) lacking L-1 and L-3; lane 5, a line (F₂) lacking L-1 and L-2. α, α' and β, subunits of β-conglycinin.

らリノール酸を各大豆変異体のホモジネートに加えたところ、いずれもヘキサナールが生成した。しかし、その量は L-2 大豆>L-1 大豆>野生大豆>全欠大豆>>L-3 大豆の順に低かった。この場合、全欠大豆ではヘキサナール生成はほとんどみられないことが期待されたが、予想に反してその量は野生大豆の69%であった。このことは大豆におけるヘキサナール生成にはリポキシゲナーゼ系とは別の系が作動していることを暗示している。さて、L-3 大豆ホモジネートにおけるヘキサナール生成量は野生大豆の場合の18%であった。これは全欠大豆の場合よりもはるかに低い値であった。このことはL-3大豆はヘキサナール先駆体の生成を行う能力に欠けているか、またはヘキサナール生成をなんらかの方法で抑制していることを示唆している。このように外部からリノール酸を加えた場合においても、L-1 及び L-2 大豆ホモジネートのヘキサナール生成量は野生大豆よりも多かったことから、これらの大豆ではL-3によるヘキサナール抑制効果が解除されたことによるものと推察された。そして、L-3 大豆では他の何れの大豆よりも最もヘキサナール生成が少

なかった。それゆえ、この種の大豆変異体を使用することによって、より不快臭の少ない大豆たん白質を生産する可能性が大きくなったといえる。

文 献

- 1) Matoba T, Hidaka H, Kitamura K, Kaizuma N and Kito M (1985): Lipxygenase-2 isozyme is responsible for generation of *n*-hexanal in soybean homogenate. *J Agric Food Chem*, **33**, 852-855
- 2) Matoba T, Hidaka H, Kitamura K, Kaizuma N and Kito M (1985): Contribution of hydroperoxide lyase activity to *n*-hexanal formation in soybean. *J Agric Food Chem*, **33**, 856-858
- 3) Takamura H, Kitamura K, and Kito M (1991): Inhibition by lipxygenase-3 of *n*-hexanal generation in soybeans. *FEBS Letter*, **292**, 42-44