

HELENA PORZUCEK

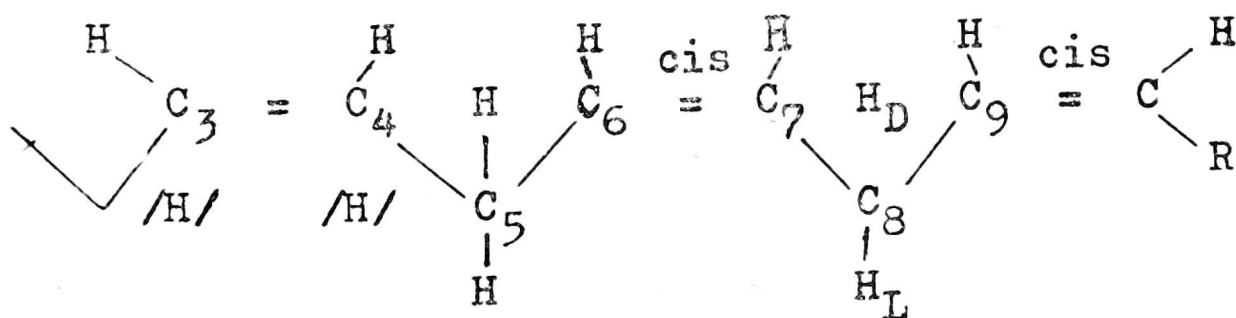
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego — Akademia Rolnicza w Warszawie

LIPOOKSYGENAZA, JEJ WŁAŚCIWOŚCI I ZNACZENIE

Lotne aldehydy i alkohole są ważnymi związkami odpowiedzialnymi za charakterystyczny zapach wytwarzający się podczas psucia się owoców i warzyw. Powstają one m.in. w wyniku rozkładu nienasyconych kwasów tłuszczowych, który zapoczątkowuje enzym lipooksygenaza.

Lipooksygenaza (oksydoreduktaza linolan:tlen) EC.1.13.11.12. (dawniej 1. 13. 1. 13.) została wykryta w soi w 1928 roku i błędnie nazywana oksydazą karotenową [44]. Krystaliczną lipooksygenazę otrzymał Theorell w latach czterdziestych. Prowadzone intensywnie badania wykazały szerokie rozpowszechnienie tego enzymu zarówno w tkankach roślinnych, jak i zwierzęcych, a także grzybach [13, 39]. Uważany jest on za główny katalizator reakcji oksydoredukcyjnych w roślinach [46].

Lipooksygenaza katalizuje utlenianie tlenem cząsteczkowym wielonienasyconych kwasów tłuszczowych i ich estrów do odpowiednich wodoronadtlenków. Warunkiem koniecznym działania enzymu jest występowanie w utlenianym substracie ugrupowania *cis,cis*—1,4-pentadienowego —CH=CH—CH₂—CH=CH—. Grupa metylenowa w tej jednostce musi znajdować się w pozycji ósmej licząc od metylowego końca łańcucha kwasu tłuszczowego [25, 44]. Jest to podstawowa część kwasu tłuszczowego, który jest substratem lipooksygenazy. Wymagane są podwójne wiązania *cis* w pozycjach szóstej i dziewiątej oraz atomy wodoru przy C₆ i C₈ — w pozycji H_L [44]. Warunkom tym odpowiadają kwasy: linolowy CH₃—(CH₂)₄—CH=CH—CH₂—CH=C(CH₂)₇—COOH i linolenowy CH₃—CH₂—CH=CH—CH₂—CH=CH—CH₂—CH=CH—(CH₂)₇

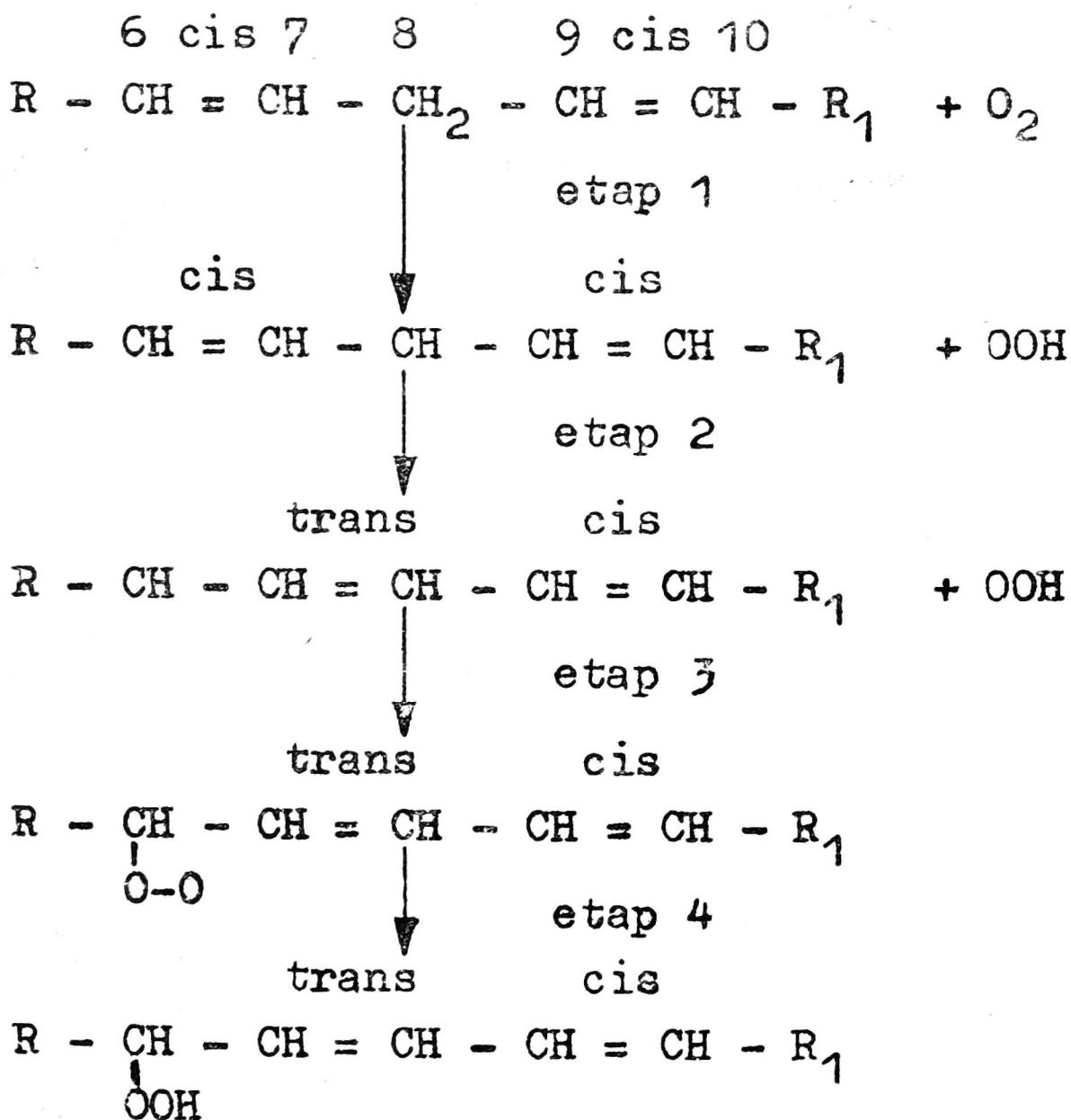


Rys. 1. Fragment łańcucha kwasu nienasyconego tłuszczowego stanowiącego substrat dla lipooksydazy.

—COOH. Inne wielonienasycone kwasy tłuszczowe mogą też być atakowane, ale wolniej, np. lipooksygenaza ogórków wykazywała w stosunku do kwasu arachidonowego tylko 23% aktywności wykazywanej w stosunku do kwasu linolowego [43]. Natomiast kwasy tłuszczowe z pojedynczym lub ze sprzężonymi wiązaniami podwójnymi oraz kwasy z wiązaniami trans nie są substratami lipooksygenazy.

Mechanizm działania enzymu

W wyniku działania lipooksygenazy z nienasyconego kwasu tłuszczowego powstaje wodoronadtlenek w układzie cis, trans-1, 4-butadienowym. Reakcja ta obejmuje cztery etapy (rys. 2). W pierwszym etapie



2. Mechanizm powstawania wodoronadtlenku z nienasyconego kwasu tłuszczowego.

z kwasu tłuszczowego, połączonego w kompleks z enzymem i cząsteczką O_2 , następuje usunięcie jonu wodorowego z grupy metylenowej w pozycji ósmej i przeniesienie go na tlen. Następnie (etap drugi) zachodzi izomeryzacja z przesunięciem elektronów π prowadząca do powstania podwójnych wiązań sprzężonych trans-cis. Z kolei w etapie trzecim dwurodnik tlenu łączy się z węglem w pozycji szóstej. W stadium ostatnim do rodnika nadtlenkowego przyłącza się kation wodorowy, w wyniku czego powstaje wodoronadtlenek kwasu tłuszczowego.

Powstające w wyniku działania lipooksygenazy kwasy wodoronadtlenkowe ulegają dalszym reakcjom [16, 39]:

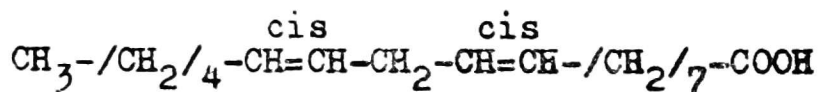
— enzymatycznej lub nieenzymatycznej (np. przez grupy tiolowe) redukcji do hydroksykwasów,

— enzymatycznej izomeryzacji prowadzącej do powstania ketoli i endioli,

— fragmentacji, w wyniku której powstają aldehydy, ketony, alkohole, związki epoksydowe, oksokwasy oraz połączenie trójhydroksylowe.

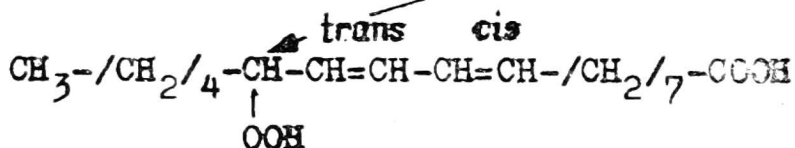
Prawdopodobne drogi tworzenia aldehydów i alkoholi z kwasów linolowego (Lin) i linolenowego (α Lnn) przedstawiano na rys. 3 i 4. Istotny wpływ na powstawanie produktów degradacji mają warunki środowiska — pH, temperatura, zawartość tlenu oraz źródło enzymu, stopień jego oczyszczenia.

Z kwasu linolowego mogą powstawać dwa izomery: kwasy 9-hydroperoksy-10,12-oktadienowy (9—Lin OOH) i 13-hydroperoksy-9,11-oktadekadienowy (13-LinOOH), jeden z nich zwykle dominuje. Stwierdzono [15], że w wyniku działania jednego z izoenzymów lipooksygenazy stosunek 13-LinOOH do 9-LinOOH wynosił od 93:7 do 7:3 w zależności od warunków panujących w środowisku reakcji, podczas gdy drugi izoenzym soi, a także enzym lucerny, powodował utworzenie równych ilości obu wodoronadtlenków [9]. W wyniku reakcji lipooksygenazy grochu z kwasu linolowego powstały izomery 9-LinOOH i 13-LinOOH w stosunku 55:45 lub 58:42 [39]. Za pomocą spektrometrii masowej i chromatografii gazowej wykazano, że enzym bakłazanów utleniał kwas linolowy w 96% do 13-LinOOH [34], podobne wyniki uzyskano dla enzymu jabłek [20]. Więcej 9-LinOOH powstawało natomiast w wyniku reakcji lipooksygenazy ziemniaków (95%), kukurydzy (83—88%) oraz pszenicy, jęczmienia i owsa [11, 15, 40]. W nasionach ogórków i arbuzów znaleziono n-heksanal, a w homogenatach fasoli, do których dodawano n-heksanal, stwierdzano znaczne ilości n-heksanolu, co świadczyło o bardzo szybkiej redukcji aldehydu oraz oksydazę alkoholową [22]. Kwas linolowy jest też prekursorem okt-1-en-3-onu, ale mechanizm powstawania tego związku nie jest jeszcze dokładnie poznany. Keton ten znaleziono w groszku, a zredukowany do okt-1-en-3-olu także w homogenatach grzybów [22].



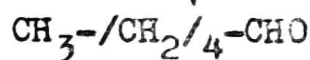
kw. cis, cis-9,12-oktadekadienowy
/kwas linolowy/

+ O₂ + lipooksygenaza



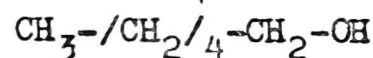
kw. 13-hydroperoksy-cis-9, trans-11-
-oktadekadienowy

enzymy rozszczepiające
wodoronadtlenki



n-heksanal

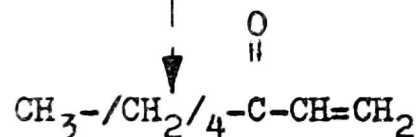
dehydrogenaza
alkoholowa



n-heksanol

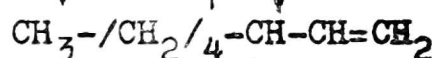
/?/

izomeraza ?
enzymy roz-
szczepiające ?



okt-1-en-3-on

dehydrogenaza
alkoholowa

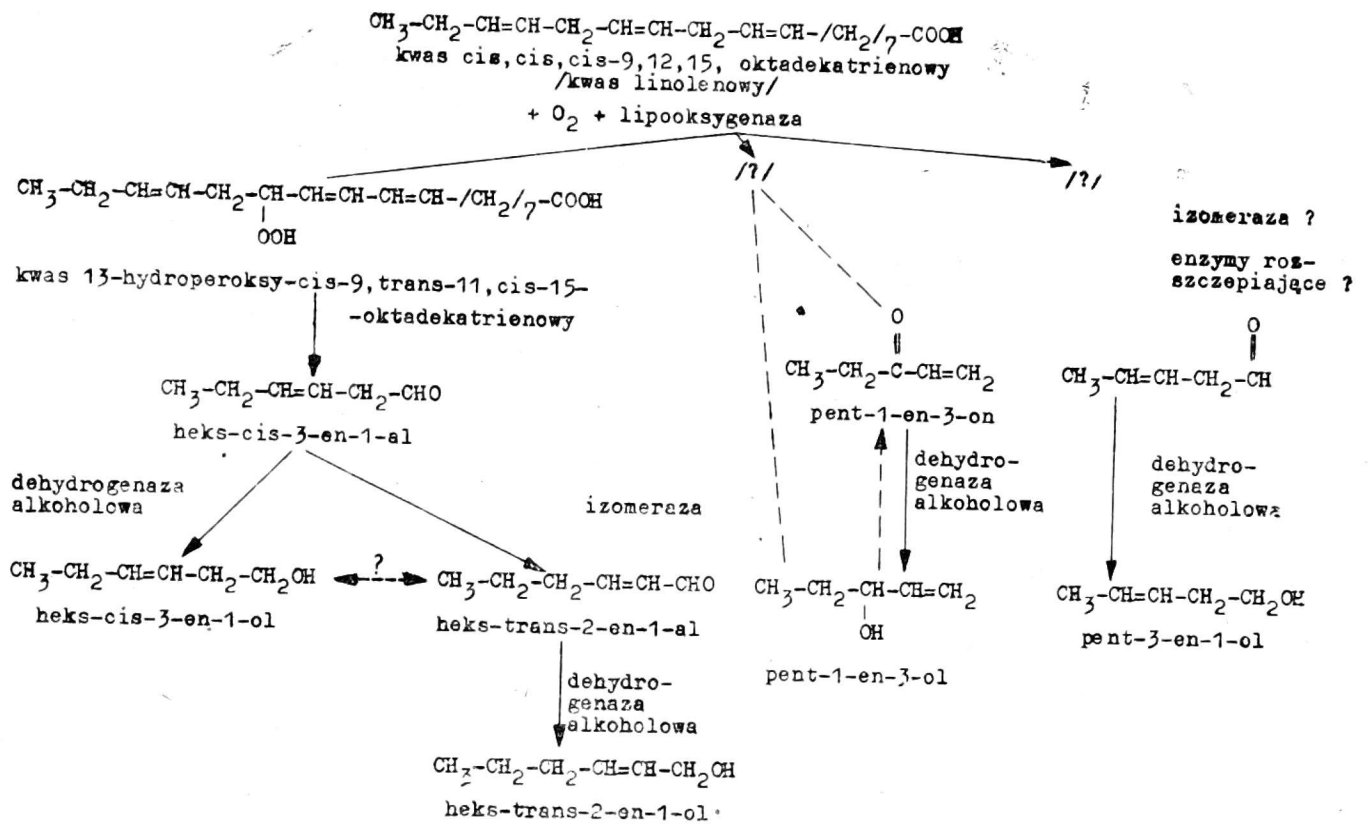


OH

okt-1-en-3-ol

3. Schemat tworzenia aldehydów i alkoholi z kwasu linolowego w fasoli [22].

W wyniku utlenienia kwasu linolenowego uzyskiwano sześć różnych wodoronadtlenków, z których dwa, 9— (9-LnnOOH) i 13-wodoronadtlenki (13-LnnOOH) powstawały w znacznych ilościach. Do wykrywania omawianych związków wykorzystywano najnowsze techniki instrumentalne — spektrometrię masową, chromatografię cienkowarstwową wodoronadtlenków kwasów tłuszczowych znakowanych ¹⁴C, optyczną rotację, GLC, NMR [40]. W badaniach prowadzonych z lipooksygenazą sojową w temperaturze 0°C uzyskano około 20% izomeru 9-LnnOOH i około 80% izomeru 13-LnnOOH [23], co potwierdziły też badania Vliegentharta i wsp. [40]. Autorzy ci stwierdzili natomiast przewagę izomeru 9-LnnOOH powstającego w wyniku działania lipooksygenazy zawartej w kiełkach kukurydzy. MacLeod [23] badając skład aromatu kapusty stwierdził, że głównymi związkami były trans-2-heksena i cis-3-heksenol, powstawały one na drodze enzymatycznej z obecnego w znacznych ilościach (30 mg/100 g) kwasu linolenowego. W aromatach pomidorów wykazano obecność m.in. cis-3-pentenolu, który mógł pochodzić z cis-3-pen-



Rys. 4. Schemat tworzenia aldehydów i alkoholi z kwasu linolenowego w fasoli i kapuście [22, 23].

tenalu [22]. Również wśród związków zidentyfikowanych w aromacie liści herbaty poddanych fermentacji stwierdzono występowanie dziesięciu aldehydów i alkoholi będących produktami utlenienia kwasu linolenowego [10].

Podczas utleniania nienasyconych kwasów tłuszczowych obserwowano słabą chemiluminescencję, która wzmagala się po dodaniu luminołu [39].

Metody oznaczania enzymu

Przy oznaczaniu aktywności lipooksygenazy wykorzystuje się trzy grupy metod jako konsekwencję działania enzymu na kwas linolenowy, a mianowicie:

- oznaczanie sprzężonych wiązań podwójnych powstałych wodoronadtlenków,
- pomiar zaabsorbowanego tlenu,
- oznaczanie powstających grup nadtlenkowych.

Sprzężone wiązania podwójne wykazują maksimum absorpcji przy 234 nm. Metody tej grupy opierają się na pomiarze przyrostu absorpcji w jednostce czasu [7, 36, 37, 44]. W celu uzyskania klarownego roztworu

substratu (kwasu linolowego) zastosowano dodatek detergentu — Tween 20, Triton X 100. Roztwór taki jest klarowny nawet w środowiskach kwaśnych. Bez tego dodatku pomiar musiał być wykonywany w pH 9.

Ilość zużytego w reakcji tlenu mierzy się manometrycznie w aparacie Wartburga lub polarograficznie z zastosowaniem elektrody tlenowej [24, 42, 44].

Szybkość reakcji utleniania mierzy się także szybkością tworzenia nadtlenków metodą jodometryczną (utlenianie J^- do J_2), żelazowo-żelazową lub też wykorzystując reakcję utleniania β -karotenu [24, 44].

Przy oznaczaniu aktywności metodą polarograficzną zbadano wpływ niejonowych detergentów na enzym. Stwierdzono, że albo nie wywierały one żadnego wpływu [43], albo działały hamująco lub stymulująco na aktywność lipooksygenazy [28].

Inną trudność przy izolowaniu aktywnego enzymu stwarza też obecność fenoli [12]. W tych przypadkach podczas ekstrakcji dodaje się czynniki redukujące będące inhibitorami oksydazy fenolowej np. $Na_2S_2O_5$ [13].

Lipooksygenaza została oznaczona w wielu warzywach, owocach i zbożach. Stosunkowo wysoką aktywność wykazują rośliny należące do rodzin *Papilionaceae* — motylkowate, *Solanaceae* — psinakowate i *Cruciferae* — krzyżowe (tab. 1).

Aktywność izoenzymu L_1 izolowanego i oczyszczanego z soi wynosiła 2,6—3,3 μ kat/mg białka, izoenzymu L_2 —1,1 μ kat/mg [26]. Enzym grochu wykazywał niższą aktywność równą 1—1,4 μ kat/mg. Najbardziej oczyszczone frakcje enzymu z kielków pszenicy wykazywały aktywność w granicach 2,4—3,8 μ kat/mg [6, 26], chociaż Wallace i Wheeler [26, 41] uzyskali wartości równe tylko 0,1 μ kat/mg, spowodowane to było z pewnością zastosowaniem substratu przygotowywanego bez dodatku detergenta.

Lipooksygenaza liści herbaty zlokalizowana jest w lamellach chloroplastów [38], enzym jabłek związany jest z błonami komórkowymi [12, 13], a w ziemniakach i ogórkach znaleziony został w protoplastach [42, 43]. Według Erikssona [32] 5—18% aktywności lipooksygenazy w grochu zlokalizowane jest w skórce, 80% w wewnętrznej, a 12% w zewnętrznej tkance liścieni.

Charakterystyka fizykochemiczna enzymu

Ciężar cząsteczkowy lipooksygenazy zawiera się w granicach 70 000—120 000 i wynosi dla izoenzymów izolowanych z soi 85 000 i 100 000 [8], z pomidorów 87 000 [8], z grochu 72 000—78 000 [5, 8, 39] i 95 000

Tabela 1

Aktywność lipooksygenazy w surowcach roślinnych

Źródło enzymu	Aktywność oznaczona metodą			
	manometryczną		polarograficzną	spektrofotometryczną
	bez dodatku Tritonu	z dodatkiem Tritonu	jedn./g białka	jedn./mg białka
	μdm ³ O ₂ /10 g św. tk./min		wg [29]	wg [22]
wg [28]				
Papilionaceae — Motylkowate				
Soja — <i>Glycine max</i>	4150	1756	—	—
Groszek — <i>Pisum sativum</i>	1769	2814	13,55	—
Bób — <i>Vicia faba</i>	840	1440	—	—
Solanaceae — Psiankowate				
Ziemniak — <i>Solanum tuberosum</i>	4560	1800	14,19	667
Bakłażan — <i>Solanum melongena</i>	4320	9360	9,25	—
Pomidor — <i>Lycopersicum esculentum</i>	360	240	2,64	237
Papryka — <i>Capsicum annum</i>	120	150	6,08	—
Cruciferae — Krzyżowe				
Kalafior — <i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i>	1440	60	1,59	—
Kapusta — <i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>	60	0	3,92	—
Rzepa — <i>Brassica rapa</i>	0	0	1,00	—
Rzodkiewka — <i>Raphanus sativus</i>	—	—	6,10	—
Cucurbitaceae — Dyniowate				
Dynia — <i>Cucurbita pepo</i>	120	30	—	—
Kabaczek — <i>Cucurbita pepo</i> var. <i>melopepo</i>	30	—	5,50	—
Ogórek — <i>Cucumis sativus</i>	—	—	4,00	191
Umbelliferae — Baldaszkowate				
Pietruszka — <i>Petroselinum sativum</i>	120	180	—	—
Seler — <i>Apium graveolens</i>	120	60	2,78	204
Marchew — <i>Daucus carota</i>	0	0	4,27	—
Liliaceae — Liliowate				
Cebula — <i>Allium cepa</i>	180	120	2,93	316
Czosnek — <i>Allium sativum</i>	150	120	—	—
Szparagi — <i>Asparagus officinalis</i>	—	—	3,49	—
Rosaceae — Różowate				
Jabłka — <i>Malus domestica</i>	0	120	18,50	101
Gruszki — <i>Pyrus communis</i>	0	0	4,89	41
Rutaceae — Rutowate				
Mandarynki — <i>Citrus reticulata</i>	90	0	—	—
Pomarańcze — <i>Citrus sinensis</i>	30	40	0,29	—
Grejpfruty — <i>Citrus paradisi</i>	15	0	—	—

Znak „—” oznacza brak danych.

[46], z pszenicy 90 000—95 000 i 110 000 [26]. Ciężar cząsteczkowy enzymu izolowanego z jabłek był wyższy, wynosił ok. 200 000 [13].

Oznaczono skład aminokwasowy enzymów izolowanych z różnych surowców. Jednak uzyskane wyniki różniły się między sobą szczególnie co do liczby reszt cystynowych. Różni autorzy stwierdzali obecność czterech, pięciu, a nawet dwunastu tych reszt [6, 39].

Warunki działania enzymu

Wpływ pH. Optymalna wartość pH działania lipooksygenazy jest bliska 7, zwykle nieco niższa, mieszcząca się między 6 a 7 (tab. 2). W większości surowców nie stwierdzano aktywności enzymu poniżej pH 4,0 i powyżej 9,0 [25, 46]. Surrey [36] określił pH 7,0 jako wartość optymalną dla oczyszczonej lipooksygenazy z soi, 6,0 dla enzymu surowego z mąki sojowej i 5,5 z fasoli złotej. Ben-Aziz i wsp. [7] w swoich pracach podali, że maksymalna aktywność ekstraktu sojowego oznaczana metodą spektrofotometryczną występowała przy pH około 9. Autorzy ci nie badali aktywności poniżej pH 6,5 ze względu na wytrącanie się białek powodujących zmętnienie roztworu w takim środowisku. Kilka lat później Grosch i Laskawy [17] stwierdzili obecność trzech izoenzymów w soi — zasadowego o optimum działania w pH 9,0 i dwóch obojętnych o optimum w pH 6,5. Również z bobiku wyizolowano izoenzymy o takich samych optymalnych wartościach pH — 6,5 i 9,0 [1]. Enzym dziesięciu odmian ryżu wykazywał optymalną aktywność przy pH 8 [31].

Wpływ temperatury. Optymalna temperatura działania lipooksygenazy z różnych źródeł wynosi około 25°C [25].

Enzym ogórków wykazywał optimum działania w temperaturze 40°C, połowę swej aktywności tracił po ogrzewaniu w temperaturze 50°C przez 5 minut, całą zaś po 2 minutach w temperaturze 70°C [43]. Był on mniej stabilny niż enzym pomidorów, którego aktywność zmniejszała się do połowy w 50°C po 45 minutach, w 60°C po 10 minutach, a w 70°C po 1 minucie [8]. Enzym jabłek po ogrzewaniu przez 5 minut w temperaturze 40°C zachowywał jeszcze 50% aktywności, był całkowicie inaktywowany po 10-minutowym ogrzewaniu w 50°C [20].

Inhibitory enzymu. Przez długi czas sądzono, że lipooksygenaza nie zawiera grupy prostetycznej. Spostrzeżenie to oparto na tym, że nie jest hamowana przez cyjanki (10^{-3} M), EDTA, imidazol ani cysteinę [8, 43]. Kwas askorbinowy i EDTA w stężeniach 1% miały działanie ochronne na enzym izolowany z pomidorów [8]. Wardale i wsp. [43] stwierdzili, że ochronne działanie EDTA wykazywał już

Tabela 2

Optymalne wartości pH działania lipooksygenazy

Źródło enzymu	pH _{opt.}	Literatura
Bakłażany	6,5	[8]
Bób	6,8	[25]
Groch	6,0—7,2	[18, 21, 32, 46]
Jabłka	6,9	[12, 13]
Kukurydza	6,2—7,1	[39]
Ogórki	5,5	[43]
Pomidory	6,3—6,5	[8, 22]
Pszenica	6,0—6,5	[20, 26]
Soja — L ₁	9,0	
L ₂	6,5	
L ₃	6,5	[1, 32, 36]
Ziemniaki	5,5—6,0	[25, 39, 42]

w stężeniu 1 mM (0,38%). Jednakże oczyszczony enzym pomidorów tracił połowę aktywności po dziesięciodniowym przechowywaniu w temperaturze 4°C. W badaniach nad lipooksygenazą jabłek stwierdzono odwracalną inhibicję białka enzymatycznego przez EDTA i KCN, co z kolei świadczy, że w reakcji bierze udział jon metalu [20]. Badania za pomocą absorpcji atomowej wykazały obecność 1 mola żelaza niehemowego przypadającego na 1 mol białka izoenzymu L₁ soi oraz enzymu bobu [25, 39, 40]. Vliegenthart i wsp. [40] wykorzystując technikę ERP wykazali, że enzym soi zawierał kompleks Fe(II)—O₂.

Inhibitorami lipooksygenazy są przeciwutleniacze: butylohydroksyanizol (BHA), butylohydroksytoluen (BHT), α - tokoferol, kwas nordwuhydrogwajaretowy (NDGA), galusan propylu (PG), kwas galusowy [8, 30, 32, 37]. Przeciwutleniacze tłuszczów działają na enzym prawdopodobnie przez wytworzenie wolnych rodników w wyniku rozerwania łańcucha kwasu tłuszczowego [44]. Ponadto przeciwutleniacze aktywniej wiążą tlen tworząc w ten sposób środowisko o odpowiednio niskim potencjale oksydoredukcyjnym przez co utrudniony jest kontakt nienasyconych kwasów z tlenem. Produkty utlenienia przeciwutleniaczy nie wykazują smaku jełkiego, ani nie są toksyczne.

St Angelo i wsp. [35] prowadząc badania nad rolą lipooksygenazy w utlenianiu lipidów i jej wpływem na jakość oleju otrzymywanego z orzeszków ziemnych stwierdzili, że w natywnych tkankach mogą występować dwa typy inhibitorów — kwas erukowy oraz związki polifenolowe. Prawdopodobnie obecność kwasu erukowego, nienasyconego

kwasy tłuszczowe zawierające 22 atomy węgla z podwójnym wiązaniem cis w pozycji C-13,14, przeszkadzała w oznaczeniu aktywności lipooksygenazy w rzepaku. Roślinne związki fenolowe są bardzo zróżnicowane, mogą one tworzyć różnego rodzaju wiązania z białkami — wodorowe, kowalencyjne, jonowe i hydrofobowe. Dotychczas jednak nie zbadano jeszcze mechanizmu działania wspomnianych wyżej naturalnych inhibitorów.

Lipooksygenaza niektórych gatunków fasoli hamowana była przez niskie stężenia benzoesu p-chlorortęciowego (pCMB), jednak aktywność enzymu powracała po dodaniu zredukowanego glutationu. Wskazywałoby to na obecność grup -SH w cząsteczce enzymu [33, 44].

Nadtlenek wodoru już w stężeniu 0,005% gwałtownie niszczył aktywność lipooksygenazy [30]. Obserwowano też inhibicję enzymu przez nadmiar substratu [41].

Wpływ jonu wapniowego. Nie została również jednoznacznie wyjaśniona rola jonu wapniowego, co do której istnieją sprzeczne poglądy. Jon Ca^{2+} wywiera bowiem wpływ aktywujący na enzym z niektórych źródeł, a hamujący — z innych. Jeden z izoenzymów soi był hamowany przez jon wapniowy, drugi natomiast aktywowany, ale nie znaleziono jego optymalnego stężenia. Ponadto w obecności Tween 20 jon wapniowy działał jako inhibitor [4, 25, 32]. W badaniach lipooksygenazy grochu stwierdzano [18, 21], że enzym wykazywał wyższą aktywność oznaczaną w obecności jonów Ca^{2+} , ale jon ten dodawany podczas oczyszczania działał hamująco w stężeniach od 0 do 4 mM. Nie stwierdzano obniżenia aktywności lipooksygenazy z ogórków w obecności Ca^{2+} [43]. W przypadku orzeszków ziemnych dodatek wapnia nie tylko powodował tworzenie większej ilości, ale także zmieniał stosunek powstających z kwasu linolowego wodoronadtlenków 9-LinOOH i 13-LinOOH [27].

Rola enzymu

Lipooksygenaza jest szeroko rozpowszechniona w świecie roślinnym. Odgrywa ona istotną rolę w kształtowaniu cech smakowo-zapachowych żywności. Jej działanie może wywierać wpływ korzystny, ale i szkodliwy. Jednak dotychczas nie udało się jednoznacznie określić jej funkcji w metabolizmie lipidów roślinnych.

Od kilku lat prowadzone są obszerne badania nad biologicznym znaczeniem tego enzymu. Przypuszcza się [39], że wodoronadtlenki są związkami toksycznymi dla żywych komórek, a więc ich tworzenie nie może być celem samym w sobie. Następować musi konwersja do związków mniej szkodliwych. W roślinach stwierdzono obecność różnych

związków uważanych za metabolity wodoronadtlenków np. α - i γ -ketoli (kukurydza, len, lucerna, jęczmień) nienasyconych eterów (ziemniaki), mono-, dwu- i trójhydroksykwasów (groch, pszenica), oksodienów, dime-rów kwasów tłuszczowych (soja) i alkanów (soja, orzechy ziemne). Nie jest wykluczone, że przemiana kwasów tłuszczowych zapoczątkowywana przez lipooksygenazę jest energetycznie korzystna w pewnych stadiach rozwoju roślin. Być może, że aspekty energetyczne mają większe zna-czenie niż powstające metabolity [39].

Pożyteczne działanie lipooksygenazy obserwuje się w piekarstwie. W USA, Wielkiej Brytanii, a także w ZSRR powszechnie stosowany jest dodatek enzymatycznie aktywnej mąki sojowej, we Francji zastąpiono ją mąką z bobu [2, 3, 25, 26, 45]. W Polsce prowadzono badania nad możli-wością wykorzystania soku ziemniaka jako źródła lipooksygenazy, której aktywność jest zbliżona do aktywności w mące sojowej [3].

Lipooksygenaza spełnia różnorakie funkcje podczas przygotowywania ciasta. Wodoronadtlenki powstające w wyniku utlenienia nienasyconych kwasów tłuszczowych mają zdolność utleniania barwników karotenowych mąki, w wyniku czego tracą one zabarwienie, co z kolei powoduje rozjaśnienie miękiszu chleba [3, 19, 26]. Ponadto zachodzi też poprawa właści-wości wypiekowych mąki dzięki utlenieniu grup -SH. Powstające wiąza-nia dwusiarczkowe wzmacniają „szkielet” białkowy w cieście zmieniają jego własności reologiczne [3, 14, 26, 32]. Zwiększa się w ten sposób obję-tość pieczywa przy jednoczesnej drobnej i równomiernej porowatości. Lipooksygenaza utleniając nienasycone kwasy tłuszczowe hamuje ich reakcję z białkami, co nadaje ciastu przyjemny orzechowy posmak. En-zym ulega unieczynnieniu podczas wypieku pieczywa. Nieprzerwanie je-go działania w odpowiednim momencie może spowodować powstanie produktów wtórnego utlenienia wodoronadtlenków o smaku i zapachu jełkim [3].

Produkty utlenienia nienasyconych kwasów tłuszczowych oraz dal-szej ich degradacji posiadają często nieprzyjemny zapach, określane ja-ko trawiasty, stęchły, gorzki [32], nie są one biologicznie aktywne, a po-nadto mogą mieć właściwości toksyczne. W ten sposób ulega zmniejszeniu zawartość niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych w produk-cie. Powstające ketony są odpowiedzialne za jełkość oksydacyjną, nadają zmieniony, nienaturalny smak i zapach produktom żywnościowym i pa-szowym, takim jak kasze, mąki, pasze, w skład których wchodzi soja, bobik. Ponadto w wyniku reakcji ketonów i aldehydów z aminokwasa-mi i białkami obniża się wartość odżywcza i żywieniowa produktów.

Lipooksygenaza łatwo utlenia karotenoidy, co prowadzi do obniżenia wartości witaminowej A. Istotne jest to szczególnie w przypadku zielo-nych warzyw, np. szpinaku, groszku. Aby temu zapobiec, niezbędna jest

szybka cieplna obróbka tych surowców — blanszowanie. W nieblanszowanych przed zamrożeniem warzywach stwierdzano obcy, często jełki, posmak, co związane było z wyższą zawartością wodoronadtlenków i związków karbonylowych, które powstawały w wyniku działania lipooksygenazy na lipidy zawarte w warzywach [29, 40].

Ostatnio zwrócono również uwagę, że lipooksygenaza może być odpowiedzialna za zaburzenia fizjologiczne w jabłkach. Stwierdzono, że wzrost aktywności enzymu poprzedzał wytwarzanie etylenu, który przyspiesza wystąpienie okresu klimakterium [8]. Dotychczas nie jest poznany dokładnie mechanizm reakcji biochemicznych prowadzących do powstania etylenu. Prawdopodobnie jest on produktem przemian oksydacyjnych kwasu linolenowego, może też powstawać z aldehydu octowego, kwasu pirogronowego, metioniny i innych związków. Według różnych autorów właśnie lipooksygenaza, transaminaza (z metioniną jako substratem) oraz peroksydaza są włączone w syntezę etylenu [8].

W badaniach aktywności lipooksygenazy podczas całego okresu przechowywania jabłek Feys i wsp. [12] stwierdzili, że była ona znacznie wyższa w gnieździe nasiennym niż w pozostałych częściach owocu. Uważa się, że występujące brązowienie komory nasiennej może być spowodowane stosunkowo wysoką zawartością enzymu, który działając na wielonienasycone kwasy tłuszczowe niszczy strukturę błon lipoproteiny. Również jest możliwe, że lipooksygenaza włączona jest w powstawanie oparzelin skórki jabłek [12].

LITERATURA

1. Abbas I. R., Siddiqi A. M., Toama S. J.: *Food Chem.*, 4, 269, 1979.
2. Ambroziak Z. W.: *Issledowanie i proizvodstvennye ispytaniya fermentnogo (lipoksigenaznogo) sposoba uluczsheniya kaczestwa pszenicznego chleba.* Moskwa 1967, rozprawa doktorska.
3. Ambroziak Z.: *Próby optymalizacji właściwości reologicznych ciasta w oparciu o regulację procesów fizycznych i biochemicznych.* Warszawa 1976, rozprawa habilitacyjna. *Nadbitka z Zagadnień Piekarstwa* 1976, nr 2, 1—51.
4. Andrawis A., Pinsky A., Grossman S.: *Phytochemistry*, 21, 1523, 1982.
5. Arens D. i in.: *Biochim. Biophys. Acta*, 327, 295, 1973.
6. Autran M.: *Isolement de la lipoxygenase (EC.1.13.11.12.) de germe de ble tendre etude de quelques caracteristiques physico-chimiques.* Laboratoire de Technologie Alimentaire de l'INRA, Massy 1979.

7. Ben-Aziz A. i in.: *Analytical Biochemistry*, 34, 88, 1970.
8. Bonnet J. L., Crouzet J.: *J. Food Sci.*, 42, 625, 1977.
9. Chang C. C., Esselman W. J., Clagett C. O.: *Lipids*, 6, 100, 1971.
10. Coggon Ph., Romanczyk L. J., Sanderson G. W.: *J. Agric. Food Chem.*, 25, 278, 1977.
11. Duden Rm.: *Int. J. Refrigeration*, 1, 233, 1978.
12. Feys M. i in.: *Phytochemistry*, 19, 1009, 1980.
13. Feys M. i in.: *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 174, 360, 1982.
14. Freizer P. J.: *J. Sci. Food Agric.*, 27, 247, 1977.
15. Gardner H. W.: *J. Agric. Food Chem.* 23, 126, 1975.
16. Graveland A., Marseille J. P., Visser N. H.: *Getreide, Mehl u. Brot*, 181, 1977.
17. Grosch W., Laskawy G.: *J. Agric. Food Chem.*, 23, 791, 1975.
18. Haydar M., Steele L., Hadziyev D.: *J. Food Sci.*, 40, 808, 1975.
19. Ikediobi C. O., Snyder H. E.: *J. Agric. Food Chem.*, 25, 124, 1977.
20. Kim I. S., Grosch W.: *J. Agric. Food Chem.*, 27, 243, 1979.
21. Klein B. P.: *J. Agric. Food Chem.*, 24, 938, 1976.
22. Lumen B. O. i in.: *J. Food Sci.*, 43, 698, 1978.
23. MacLeod A. J., Pikk H. E.: *J. Agric. Food Chem.*, 27, 469, 1979.
24. Nicolas J., Beaux J., Drapron R.: *Ann. Technol. agric.*, 23, 287, 1974.
25. Nicolas J., Drapron R.: *Ann. Technol. agric.*, 26, 119, 1977.
26. Nicolas J., Autran M., Drapron R.: *J. Sci. Food Agric.*, 33, 365, 1982.
27. Pattee H. E., Singleton J. A.: *J. Agric. Food Chem.*, 27, 216, 1979.
28. Pinsky A., Grossman S., Trop M.: *J. Food Sci.*, 36, 571, 1971.
29. Rhee K. S., Watts M.: *J. Food Sci.*, 31, 664, 1966.
30. Rhee K. S., Watts B. M.: *J. Food Sci.*, 31, 669, 1966.
31. Sekhar B. P. S., Reddy G. M.: *J. Sci. Food Agric.*, 33, 1160, 1982.
32. Sessa D. J.: *J. Agric. Food Chem.*, 27, 234, 1979.
33. Smith A. K., Circle S. J. (ed.): *Soybeans: Chemistry and Technology*. Vol. 1. Proteins. Westport Connecticut, The Avi Publishing Company Inc., 1972.
34. Sredni D., Grossman S.: *Phytochemistry*, 19, 1335, 1980.
35. St. Angelo A. J., Kuck J. C., Ory R. L.: *J. Agric. Food Chem.*, 27, 229, 1979.
36. Surrey K.: *Plant. Physiol.*, 39, 65, 1964.
37. Tappel A. L., Boyer P. D., Lundberg W. O.: *J. Biol. Chem.*, 199, 267, 1952.
38. Takeo T., Tsushida T.: *Phytochemistry*, 19, 2521, 1980.
39. Veldink G. A., Vliegenthart J. F. G., Boldingh J.: *Prog. Chem. Fats other Lipids*, 15, 131, 1977.
40. Vliegenthart J. F. G., Veldink G. A., Boldingh J.: *J. Agric. Food Chem.*, 27, 623, 1979.
41. Wallace J. M., Wheeler E. L.: *J. Agric. Food Chem.*, 23, 146, 1975.
42. Wardale D. A.: *Phytochemistry*, 19, 173, 1980.
43. Wardale D. A., Lambert E. A.: *Phytochemistry*, 19, 1013, 1980.
44. Whitaker J. R.: *Principles of Enzymology for the Food Sciencec.* Marcel Dekker, Inc., New York 1972.
45. Wolf W. J.: *J. Agric. Food Chem.*, 23, 126, 1975.
46. Yoon S., Klein B. P.: *J. Agric. Food Chem.*, 27, 955, 1979.