



Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων & Διατροφής
Πανεπιστήμιο Αιγαίου (Λήμνος)

Βιοχημεία Τροφίμων

Μέρος ΙΙ: Ο Ρόλος των Ενζύμων στα Τρόφιμα – Ενζυμική Τεχνολογία

Ακαδημαϊκό Έτος 2014 - 2015

Ενότητα 4^η
Οξειδωτικά Ένζυμα



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗ
επένδυση στην κοινωνία της γνώσης
ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ

Δημήτρης Π. Μακρής *PhD DIC*
Επικουρος Καθηγητής

Άδειες Χρήσης

Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό διατίθεται με τους όρους χρήσης Creative Commons (CC) - Αναφορά Δημιουργού - Μη Εμπορική Χρήση - Όχι Παράγωγα Έργα.

Για εκπαιδευτικό υλικό, όπως εικόνες, διαγράμματα, κείμενα, που υπόκειται σε άλλου τύπου άδειας χρήσης, η άδεια χρήσης αναφέρεται ρητώς.



Χρηματοδότηση

Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό έχει αναπτυχθεί στο πλαίσιο του εκπαιδευτικού έργου του διδάσκοντα.

Το έργο «Ανοιχτά Ακαδημαϊκά Μαθήματα στο Πανεπιστήμιο Αιγαίου» έχει χρηματοδοτήσει μόνο την αναδιαμόρφωση του εκπαιδευτικού υλικού.

Το έργο υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» και συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) και από εθνικούς πόρους.



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ

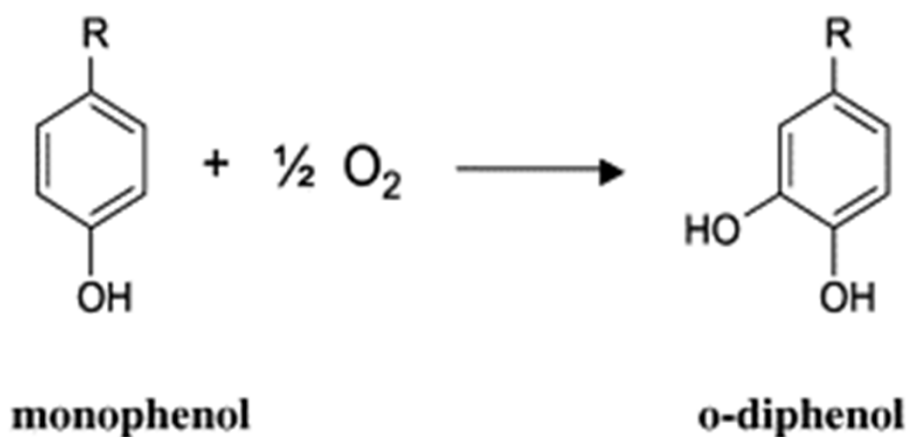
Εισαγωγικά

Η πολυφαινολοξειδάση (PPO) είναι γνωστή και ως τυροσινάση, φαινόλαση, κατεχολοξειδάση, κατεχολάση, ο-διφαινολοξειδάση, μονοφαινολοξειδάση και κρεζολάση.

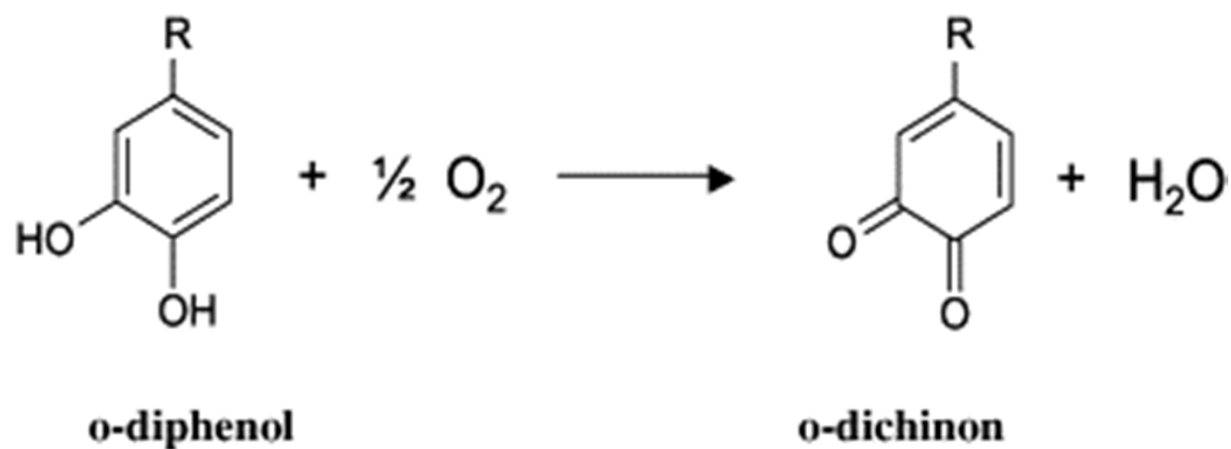
Το πρόβλημα της ονοματολογίας του ενζύμου είναι ότι μπορεί να δρα πάνω σε δύο γενικούς τύπους υποστρωμάτων:

- Σε μονοϋδροξυ φαινόλες, όπως η *p*-κρεζόλη, την οποία υδροξυλιώνει σε *o*-θέση σε σχέση με το αρχικό υδροξύλιο (monophenol, L-dopa: oxygen oxidoreductase; EC 1.14.18.1).
- Σε ο-διϋδροξυ φαινόλες, όπως η κατεχόλη, τις οποίες οξειδώνει με αφαίρεση υδρογόνων από τις υδροξυλομάδες, δημιουργώντας βενζοκινόνες (1,2-benzendiol: oxygen oxidoreductase; EC 1.10.3.1).

monophenolase-activity (cresolase)



diphenolase-activity (catecholase)

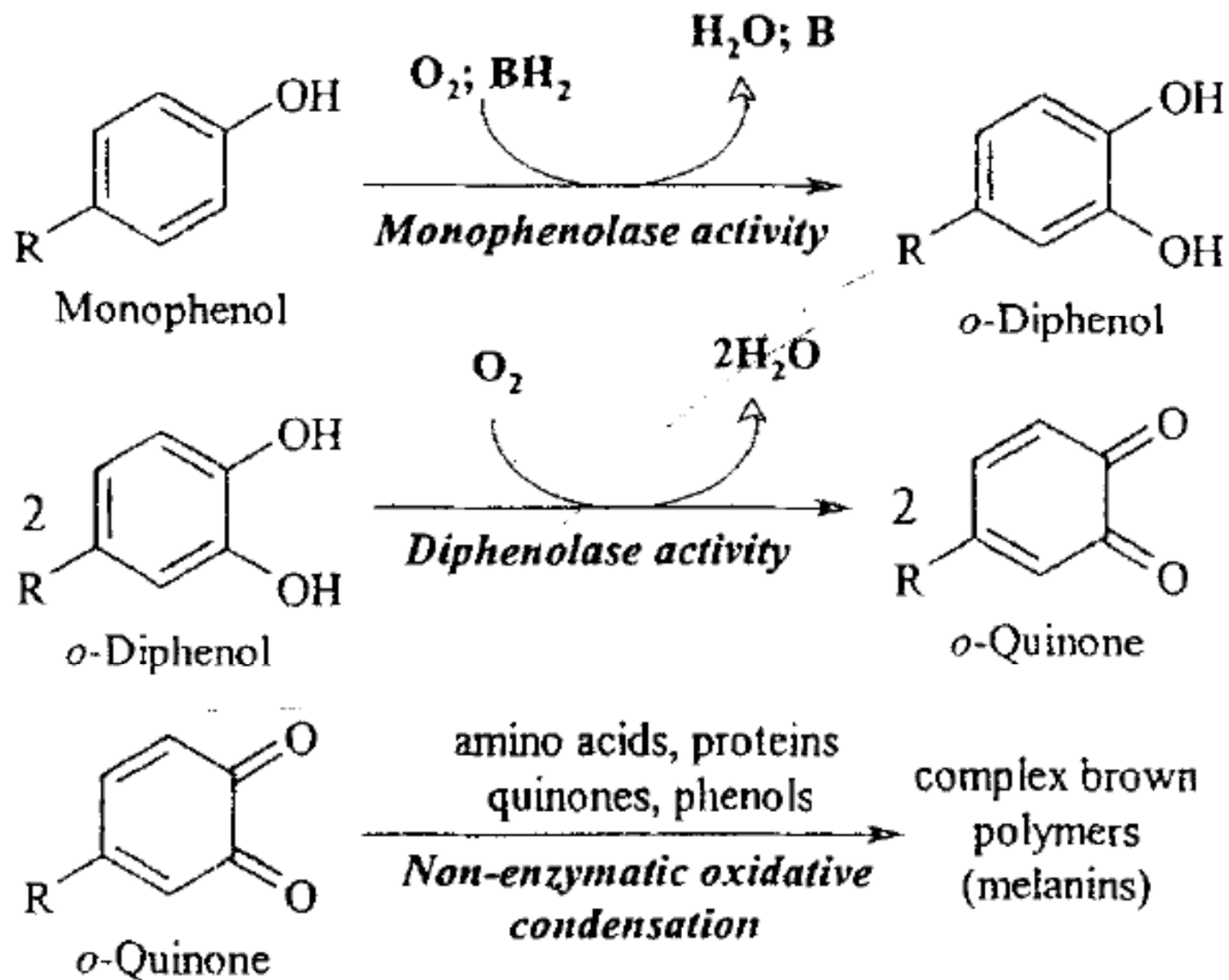


Εισαγωγικά

Γενικότερα, η πρώτη δραστικότητα του ενζύμου αναφέρεται ως μονοφαινολοξειδάση και η δεύτερη ως *ο*-διφαινολοξειδάση.

Οι μονοφαινολοξειδάσες δρουν και ως *ο*-διφαινολοξειδάσες, με μεγαλύτερες ταχύτητες. Έτσι, ανάλογα με το υπόστρωμα, μερικές φορές ταξινομούνται ως μονοφαινολοξειδάσες, *ο*-διφαινολοξειδάσες, ή και τα δύο.

Οι βενζοκινόνες που δημιουργούνται από τις *ο*-διφαινολοξειδάσες είναι πολύ ενεργά μόρια και αντιδρούν, μη-ενζυμικά, με οξυγόνο, σουλφυδρυλομάδες (-SH), αμινομάδες (-NH₂) και γενικότερα με αμίνες, αμινοξέα και πρωτεΐνες, παράγοντας ένα μεγάλο εύρος ενώσεων, οι οποίες μπορεί να είναι κίτρινες, καστανές ή μελανές χρωστικές.



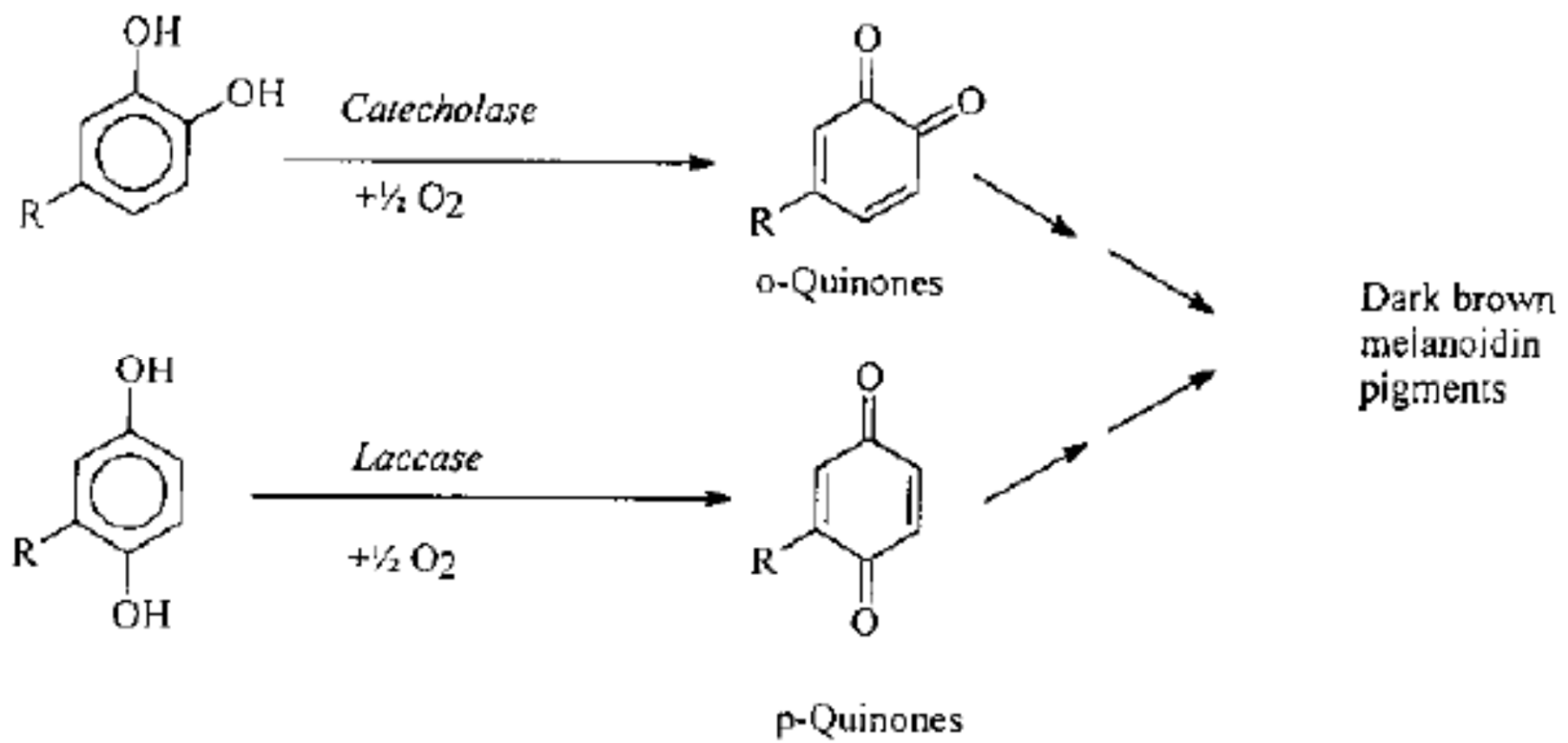
Εισαγωγικά

Ένας τρίτος τύπος αντίδρασης «πολυφαινολοξειδάσης» πραγματοποιείται με το ένζυμο **λακκάση** (benzenediol: oxygen oxidoreductase; EC 1.10.3.2), η οποία δρα πάνω σε *p*-υδροξυ ενώσεις, όχι όμως αποκλειστικά, και παράγει έγχρωμες ουσίες.

Οι λακκάσες περιέχουν κι αυτές χαλκό, αλλά το μονοπάτι του μηχανισμού οξείδωσης διαφέρει απ' αυτό των *o*-διφαινολοξειδασών.

Οι δύο τύποι των ενζύμων μπορούν να διακριθούν με τη χρήση *p*-φαιθυλενοδιαμίνης ή συριγγαλδαζίνης, οι οποίες είναι υποστρώματα μόνο της λακκάσης.

Οι ΡΡΟ βρίσκονται σε πολλούς φυτικούς ιστούς, σε μύκητες όπως τα εδώδιμα μανιτάρια, σε έντομα, τρωκτικά και στον άνθρωπο.



Ενζυμικές Ιδιότητες των ΡΡΟ

Μερικές ΡΡΟ οξειδώνουν αμφότερες μονοφαινόλες και *ο*-διφαινόλες. Στις περισσότερες περιπτώσεις που έχουν μελετηθεί, η δραστηριότητα *ο*-διφαινολάσης είναι μεγαλύτερη από αυτή της μονοφαινολάσης, δίνοντας μεγαλύτερες τιμές k_{cat} και μικρότερες K_m .

Γενικά, υπάρχουν αμφιβολίες για το αν όλες οι ΡΡΟ μπορούν να πραγματοποιήσουν το στάδιο της υδροξυλίωσης. Γί' αυτό το στάδιο, μια αναγωγική ουσία, BH_2 , απαιτείται για την αντίδραση.

Αυτή η ουσία μπορεί να είναι μια *ο*-διφαινόλη, όπως η κατεχόλη. Αν δεν είναι παρούσα μια τέτοια ουσία, μερικές ΡΡΟ είναι ικανές να δημιουργήσουν αργά BH_2 , μέσω αντίδρασης με μονοφαινόλη.

Relative Substrate Specificities of Four Polyphenol Oxidases

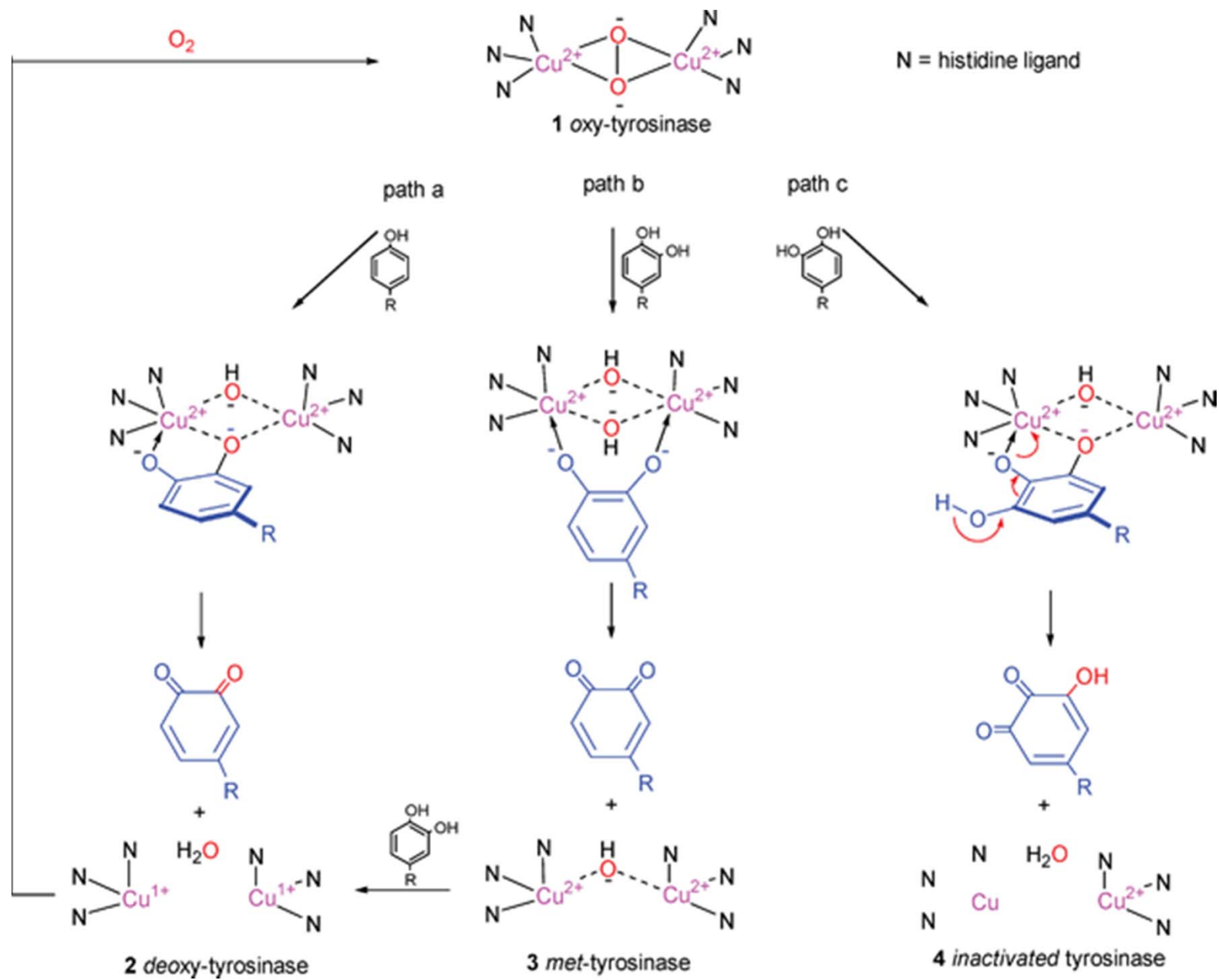
Substrate	Activity relative to catechol			
	Potato ^a	Peach ^b	Broad bean leaf ^c	Pear ^d
Di- or triphenolic compounds				
Catechol	100	100	100	100
4-Methylcatechol		51.5	200–225	72.3
<i>d</i> -Catechin		31.8		7.79
Chlorogenic acid	140	22.2	8	71.8
Caffeic acid	76.5	0	12.5	4.41
Protocatechuic acid		16.3	0.11	
3,4-Dihydroxy-L-phenylalanine	54.3	40.5	50	
Dopamine		45.6		15.6
Gallic acid		25.7	0.22	
Pyrogallol			85–95	
Monophenolic compounds				
<i>p</i> -Cresol	5.5	0	4	
<i>p</i> -Coumaric acid	nil	0	0.05	0

Ενζυμικές Ιδιότητες των ΡΡΟ

Η ουσία BH_2 ενεργεί πάνω στη *met* μορφή του $Cu(II)$ για να ανάγει δύο $Cu(II)$ σε $Cu(I)$ (μορφή *deoxy*), ο οποία μπορεί να δεσμεύσει O_2 και να οξειδώσει μια μονοφαινόλη σε *o*-διφαινόλη. Από κινητικής άποψης, για ορισμένες ΡΡΟ έχει βρεθεί ότι ο μηχανισμός που ακολουθείται είναι BiBi.

Οι ΡΡΟ απενεργοποιούνται μη-αντιστρεπτά κατά τη μετατροπή του υποστρώματος σε προϊόν. Αυτό συμβαίνει εξαιτίας της διάσπασης των κατάλοιπων ιστιδίνης που συγκρατούν τα 2 άτομα χαλκού στο ενεργό κέντρο, από ελεύθερες ρίζες.

Η καταστροφή της ιστιδίνης έχει ως αποτέλεσμα τη απώλεια των ατόμων χαλκού και συνεπώς την απώλεια της καταλυτικής ικανότητας του ενζύμου.



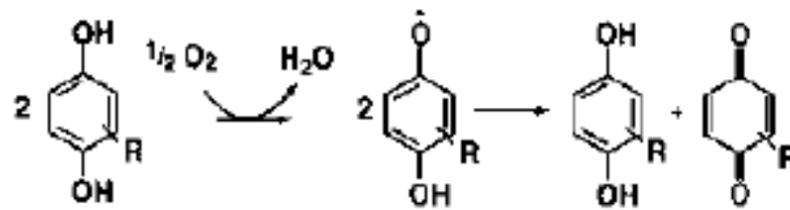
Λακκάση

Οι λακκάσες καταλύουν την τεσσάρων ηλεκτρονίων αναγωγή του O_2 σε νερό. Ως δότες ηλεκτρονίων στην αντίδραση μπορούν να χρησιμοποιηθούν διάφορες ουσίες, όπως μονοφαινόλες, *o*- και *p*-διφαινόλες, αμινοφαινόλες, ακόμα και ανόργανα ιόντα (π.χ. σιδηροκυανιούχα), οι οποίες οξειδώνονται.

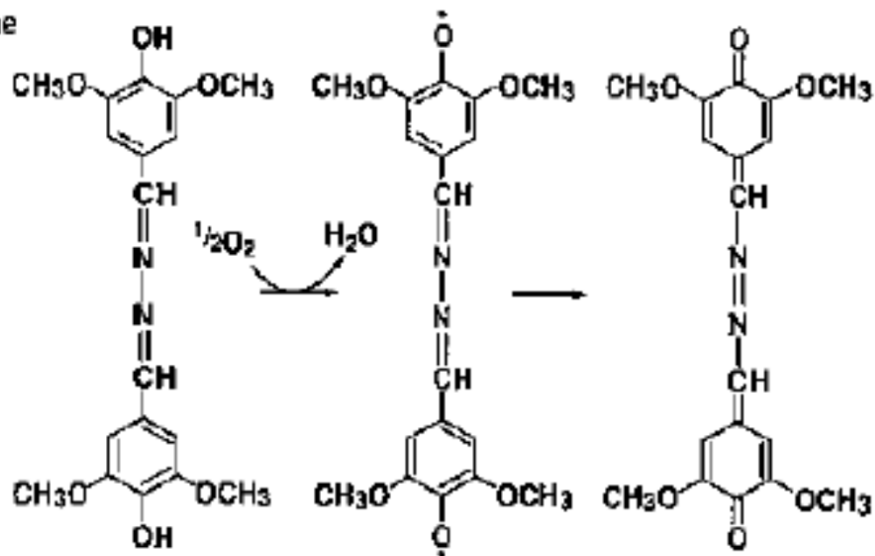
Γενικά, οι λακκάσες μπορούν να οξειδώσουν μια ποικιλία *p*-διφαινολών, παράγοντας *p*-δικινόνες.

Η οξείδωση γίνεται μέσω δημιουργίας ελευθέρων ριζών και σε διάφορες περιπτώσεις αυτό οδηγεί σε συνδυαστικές αντιδράσεις ή / και δημιουργία κινονών.

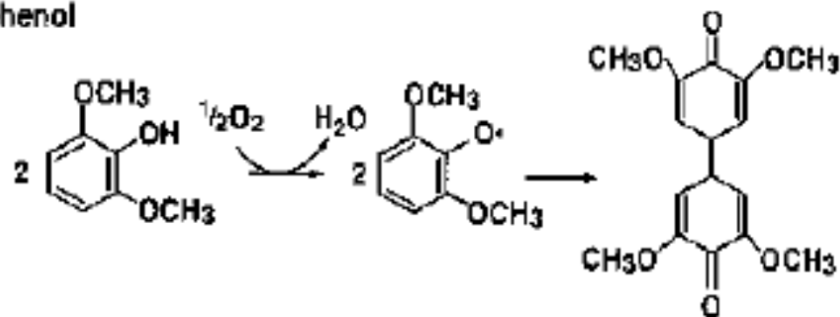
a) p-diphenol oxidase



b) syringaldazine oxidase



c) 2,6-dimethoxyphenol oxidase



Η Σημασία της Λακκάσης στα Τρόφιμα

Οι λακκάσες βρίσκονται σε ένα εύρος φυτών, μυκήτων, ακόμα και σε βακτήρια. Στα ανώτερα φυτά οι λακκάσες θεωρείται ότι εμπλέκονται στη σύνθεση λιγνίνης, αλλά και σε μηχανισμούς προστασίας / αποτοξίνωσης.

Επειδή οι λακκάσες χρησιμοποιούν ως υποστρώματα διάφορες πολυφαινολικές ουσίες, μπορούν να προκαλέσουν αντιδράσεις που επιφέρουν αμάρωση των φρούτων και λαχανικών.

Σ' αυτό εμπλέκονται και μυκητιακές λακκάσες, οι οποίες συνδέονται με προβλήματα στην ποιότητα των φρούτων και λαχανικών που μπορεί να προκύψουν κατά την αποθήκευση και επεξεργασία τους.

Ενζυμικές Ιδιότητες της Λακκάσης

Αν και οι λακκάσες μπορούν να χρησιμοποιήσουν μια ποικιλία υποστρωμάτων ως δότες ηλεκτρονίων, γενικότερα οι φυτικές και μυκητιακές λακκάσες έχουν χαμηλή εξειδίκευση υποστρώματος (υψηλές K_m), σε επίπεδο mM, για διάφορα οργανικά μόρια.

Οι διάφορες μελέτες μέχρι τώρα υποδεικνύουν ότι οι λακκάσες δεν έχουν ειδικό «θύλακα» υποδοχής φαινολικών υποστρωμάτων, αλλά η οξείδωση γίνεται με ένα μηχανισμό απευθείας μεταφοράς ηλεκτρονίων στο εξωτερικό μέρος του κέντρου που φέρει τα άτομα χαλκού.

Φυσιολογικά υποστρώματα για φυτικές λακκάσες αποτελούν ουσίες όπως η *p*-κουμαρυλική, η κονιφερυλική και η συναπυλική αλκοόλη, στις οποίες η λακκάση μπορεί να επιφέρει οξειδωτικές συνδυαστικές αντιδράσεις.

Τα φυσιολογικά υποστρώματα για τις μυκητιακές λακκάσες συνδέονται με το σκοπό που εξυπηρετεί το ένζυμο.

Επιδράσεις Περιβαλλοντικών Παραγόντων

Πολλές λακκάσες έχουν βέλτιστα pH στην όξινη περιοχή (3 - 6), παρόλο που έχουν αναφερθεί και περιπτώσεις όπου το βέλτιστο pH είναι υψηλότερο. Γενικότερα, οι μυκητιακές λακκάσες έχουν χαμηλότερα βέλτιστα pH απ' ότι οι φυτικές.

Εντούτοις, πολλές φορές το βέλτιστο pH εξαρτάται και από το υπόστρωμα. Από το υπόστρωμα και το pH εξαρτάται επίσης και το είδος και ο αριθμός των προϊόντων που θα προκύψουν.

Όσον αφορά στους αναστολείς, οι λακκάσες αναστέλλονται από ενώσεις που συμπλοκοποιούν το χαλκό (EDTA, CN^-), αλλά και από αναγωγικές ουσίες και αποσβέστες ελευθέρων ριζών.

Τιμές K_m και k_{cat}

Οι τιμές K_m για οργανικά μόρια είναι συνήθως της τάξης του 0.1 – 10 mM, όσον αφορά στα φαινολικά υποστρώματα και μερικές αμίνες παρόμοιας δομής.

Για το μοριακό οξυγόνο (O_2) ως δεύτερο υπόστρωμα, οι τιμές K_m είναι της τάξης του 10^{-5} M.

Οι τιμές k_{cat} είναι της τάξης των 70 – 2000 s^{-1} , ή 100 – 3600 min^{-1} . Οι διαφορές στις τιμές k_{cat}/K_m που έχουν παρατηρηθεί για διάφορα φαινολικά υποστρώματα έχουν αποδοθεί κυρίως στις μεταβολές των τιμών k_{cat} .

Η Σημασία στην Επεξεργασία & Ποιότητα των Τροφίμων

Οι ΡΡΟ είναι πολύ σημαντικά ένζυμα όσον αφορά στον καθορισμό της ποιότητας και γενικότερα της εμπορικής αξίας μιας πληθώρας προϊόντων, κυρίως φυτικής προέλευσης, ενώ η παρουσία αυτών των ενζύμων παίζει καθοριστικό ρόλο στη συγκομιδή, αποθήκευση και επεξεργασία σχεδόν του συνόλου των φρούτων και λαχανικών.

Φθορές και μηχανική καταπόνηση οποιοδήποτε τύπου (χτυπήματα, κοψίματα κτλ.) που επιτρέπουν τη διείσδυση O_2 στους φυτικούς ιστούς, μπορούν να επιφέρουν ταχεία αμαύρωση σε πολλά φρούτα και λαχανικά.

Σχεδόν η μισή παραγωγή ορισμένων τροπικών φρούτων δεν καταλήγει στην κατανάλωση εξαιτίας της αμαύρωσης, εφόσον ο δυσχρωματισμός, οι δυσάρεστες οσμές και η απώλεια διατροφικής αξίας δεν είναι αποδεκτά από τους καταναλωτές.

Η Σημασία στην Επεξεργασία & Ποιότητα των Τροφίμων

Η θερμική επεξεργασία είναι μια κοινή πρακτική για την απενεργοποίηση της PPO σε πολλά φρούτα και λαχανικά, αλλά κυρίως χυμούς.

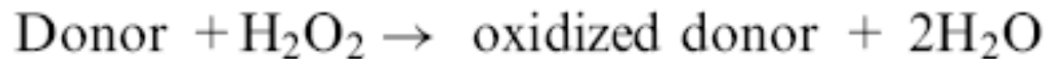
Επίσης, υπάρχουν και ουσίες που είναι αποδεκτά πρόσθετα και χρησιμοποιούνται για την αναστολή της αμαύρωσης, όπως το ασκορβικό οξύ, θειόλες και θειώδη.

Το κινναμωνικό, το *p*-κουμαρικό και το φερουλικό οξύ μπορούν να προστεθούν σε χυμό μήλου με σκοπό την αναστολή της αμαύρωσης που προκαλείται από την PPO.

Η 4-εξυλ-ρεσορκινόλη είναι ένας πολύ αποτελεσματικός και εξειδικευμένος αναστολέας της PPO και χρησιμοποιείται στην επεξεργασία της γαρίδας και μήλων.

Περοξειδάση - Εισαγωγικά

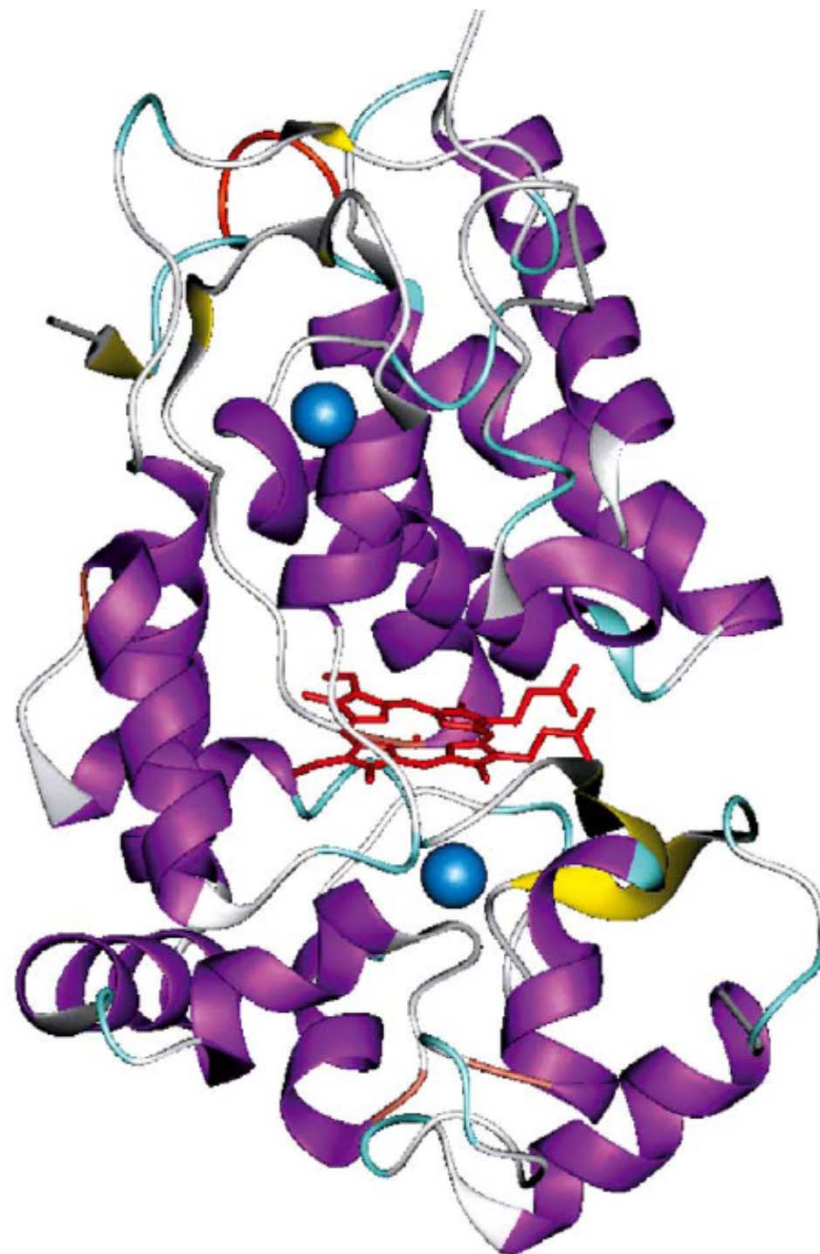
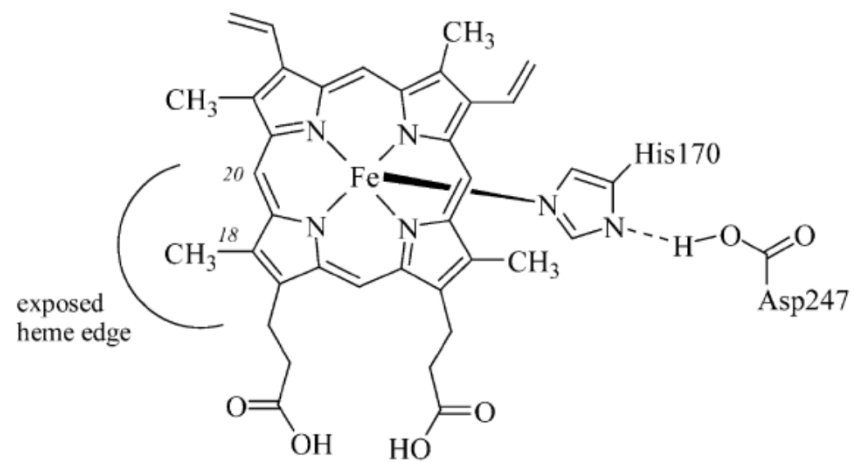
Η περοξειδάση ραπανιού (horseradish peroxidase - HRP) (donor: hydrogen-peroxide oxidoreductase; E.C. 1.11.1.7) καταλύει την αντίδραση:



Το ένζυμο χρησιμοποιεί υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2), μερικά οργανικά υπεροξείδια ή περοξυοξέα του γενικού τύπου ROOH ως δέκτες υδρογόνου, για να καταλύσει την οξείδωση μιας πληθώρας οργανικών και ανόργανων δοτών υδρογόνου, όπως π.χ, φαινόλες και αρωματικές αμίνες.

Οι HRP είναι γλυκοπρωτεΐνες και περιέχουν την πολυπεπτιδική αλυσίδα, προσθετική ομάδα (πρωτοπορφυρίνη IX), 3 - 8 υδατανθρακικές αλυσίδες και δύο Ca^{2+} .

Heme



Φυσιολογικός Ρόλος των HRP

Οι φυτικές περοξειδάσες παίζουν σημαντικό φυσιολογικό ρόλο, όπως:

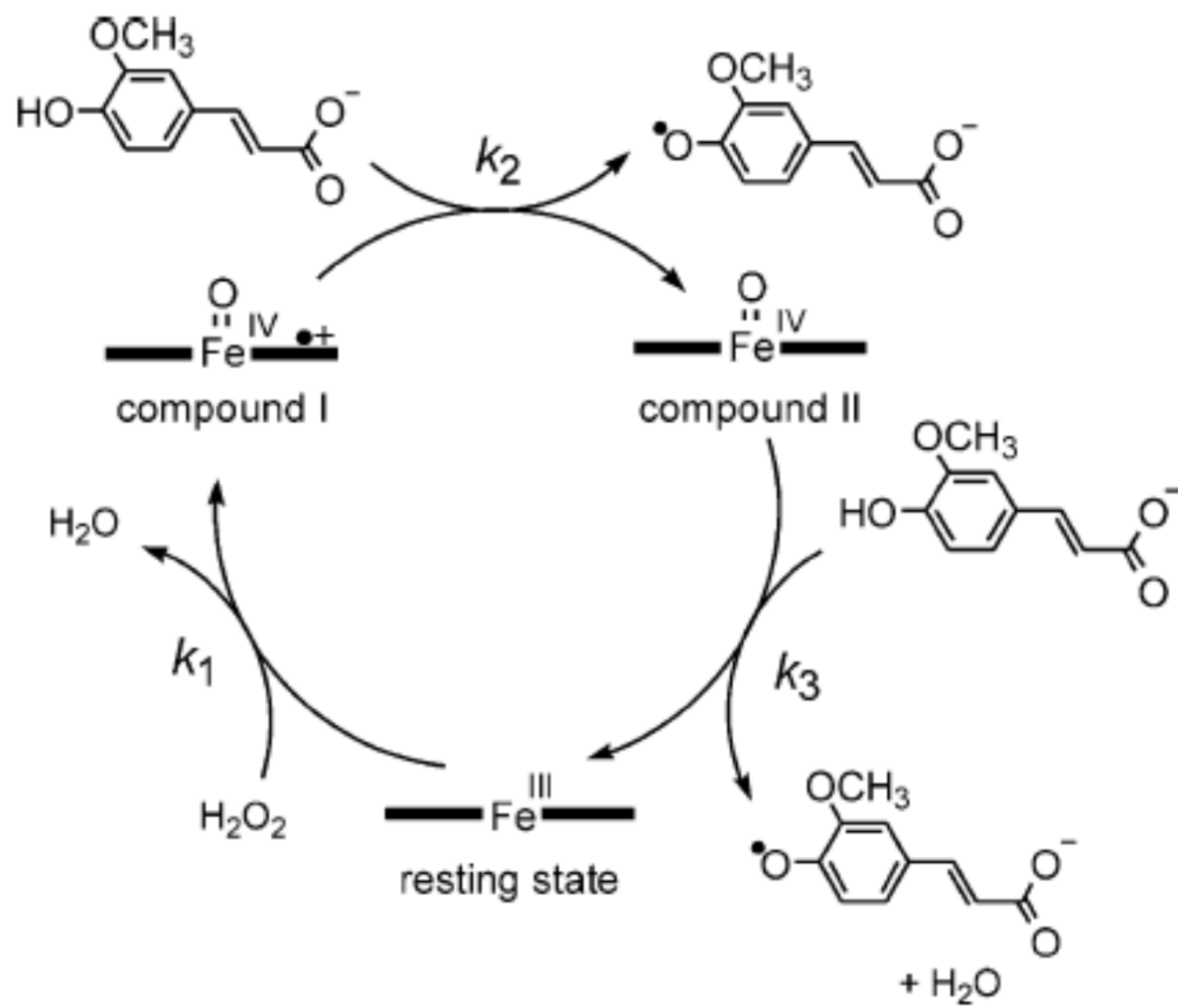
1. Η αποικοδόμηση ή σύνθεση της λιγνίνης στη διάρρηξη ή επιδιόρθωση των κυτταρικών τοιχωμάτων.
2. Η εξασφάλιση άμυνας εναντίον παθογόνων ή καταστάσεων stress.
3. Ο καταβολισμός ορμονών που συνδέονται με την ανάπτυξη των φυτών για τον έλεγχο ανάπτυξης των φυτών.
4. Η δημιουργία δραστικών ουσιών, όπως οι ελεύθερες ρίζες.
5. Η αφαίρεση του H_2O_2 .

Ενζυμικές Ιδιότητες της HRP – 1. Μηχανισμός Δράσης

Η αντίδραση της HRP με το H_2O_2 παράγει μια οξειδωμένη μορφή, γνωστή ως Ένωση I, μέσω οξείδωσης δύο ηλεκτρονίων, κατά την οποία ο τρισθενής σίδηρος (Fe^{3+}) μετατρέπεται σε ένωση τετρασθενούς σιδήρου ($\text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O}$) και η πορφυρίνη μετατρέπεται σε κατιοντική ελεύθερη ρίζα.


Σταδιακή αναγωγή της Ένωσης I από δύο ηλεκτρόνια προερχόμενα από το υπόστρωμα παράγει την Ένωση II, και η ελεύθερη ρίζα της πορφυρίνης αποσβένεται. Επίσης, ο σίδηρος μετατρέπεται πάλι σε τρισθενή.

Γενικά, η k_3 είναι πάντα 10 – 20 φορές πιο αργή από την k_2 , και υπό συνθήκες steady-state είναι το περιορίζον την ταχύτητα βήμα. Αμφότερες οι k_2 και k_3 εξαρτώνται από το υπόστρωμα.



Ενζυμικές Ιδιότητες της HRP - 2. Εξειδίκευση Υποστρώματος

Οι περοξειδάσες εξειδικεύονται σε δέκτες υδρογόνου. Μόνο το υπεροξειδίο του υδρογόνου, το μεθυλ-υδροπεροξειδίο (CH_3OOH) και το αιθυλ-υδροπεροξειδίο ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OOH}$) μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δέκτες υδρογόνου. Το ένζυμο δεν εξειδικεύεται σε δότη υδρογόνου. Ένα εύρος από φαινόλες, αμινοφαινόλες, διαμίνες, ασκορβικό οξύ και μερικά αμινοξέα είναι δότες υδρογόνου.

 Kinetic Parameters of HRP with Different Substrates

Substrate	Rates constants (31)
(a) Hydrogen acceptors	$k_1 [\text{M}^{-1} \text{sec}^{-1}]$
H_2O_2	9×10^8
Methyl hydroperoxide	1.5×10^6
Ethyl hydroperoxide	3.6×10^6
(b) Hydrogen donors	$K_m (\text{mM}) (32, 33)$
KI	181.7
o-dianisidine	0.48
4-Aminophenazone	83.33
Pyrogallol	23.80

Ενζυμικές Ιδιότητες της HRP – 3. Περιβαλλοντικοί Παράγοντες

Το βέλτιστο pH για το εμπορικώς διαθέσιμο ένζυμο είναι 7, αν και οι διάφορες ισομορφές (ισοένζυμα) του ενζύμου μπορεί να έχουν μικρότερα ή μεγαλύτερα βέλτιστα.

Η βέλτιστη θερμοκρασία μπορεί να κυμαίνεται από 40 – 52 °C, κάτι το οποίο εξαρτάται από το ισοένζυμο και το υπόστρωμα.

Η HRP είναι ένα πολύ σταθερό ένζυμο και η λυοφιλιωμένη μορφή του μπορεί να διατηρηθεί σε ψύξη για πολλά χρόνια χωρίς απώλεια ενεργότητας.

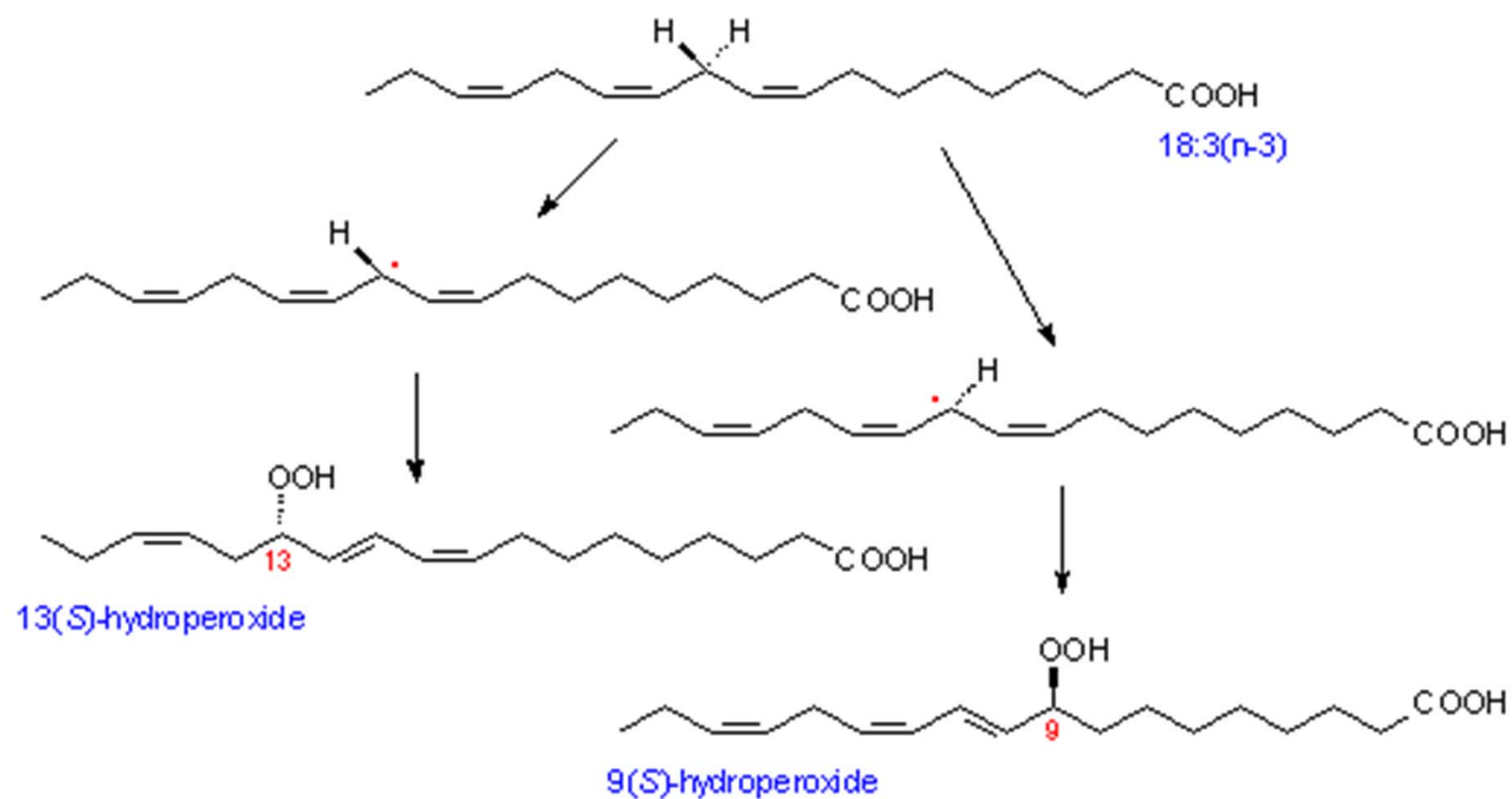
Λιποξυγενάσες - Εισαγωγικά

Η λιποξυγενάση (lipoxygenase - LOX) είναι ένα ένζυμο που περιέχει μη-αιμινικό σίδηρο και είναι πολύ διαδεδομένη στα φυτά και τα ζώα.

Οι LOX καταλύουν τη διοξυγόνωση λιπαρών οξέων με δομή πενταδιενίου όπου παρεμβάλλεται μεθυλενομάδα, προς τη δημιουργία συζυγών υδροπερόξυ-διενίων λιπαρών οξέων.

Με ελάχιστες εξαιρέσεις, οι φυτικές LOX οξειδώνουν το λινολεϊκό και το λινολενικό οξύ με τοποεξειδικευμένο τρόπο, είτε στη θέση $\omega 6$ (C-13) είτε στη θέση $\omega 10$ (C-9), με (S)-στερεοεξειδίκευση.

Γενικά, οι φυτικές LOX με υψηλά βέλτιστα pH οξειδώνουν στη θέση $\omega 6$, αν η αντίδραση γίνει σε υψηλό pH, ενώ τα ένζυμα με ουδέτερο ή χαμηλό βέλτιστο pH πραγματοποιούν είτε $\omega 10$ οξείδωση, ή και τους δύο τύπους.

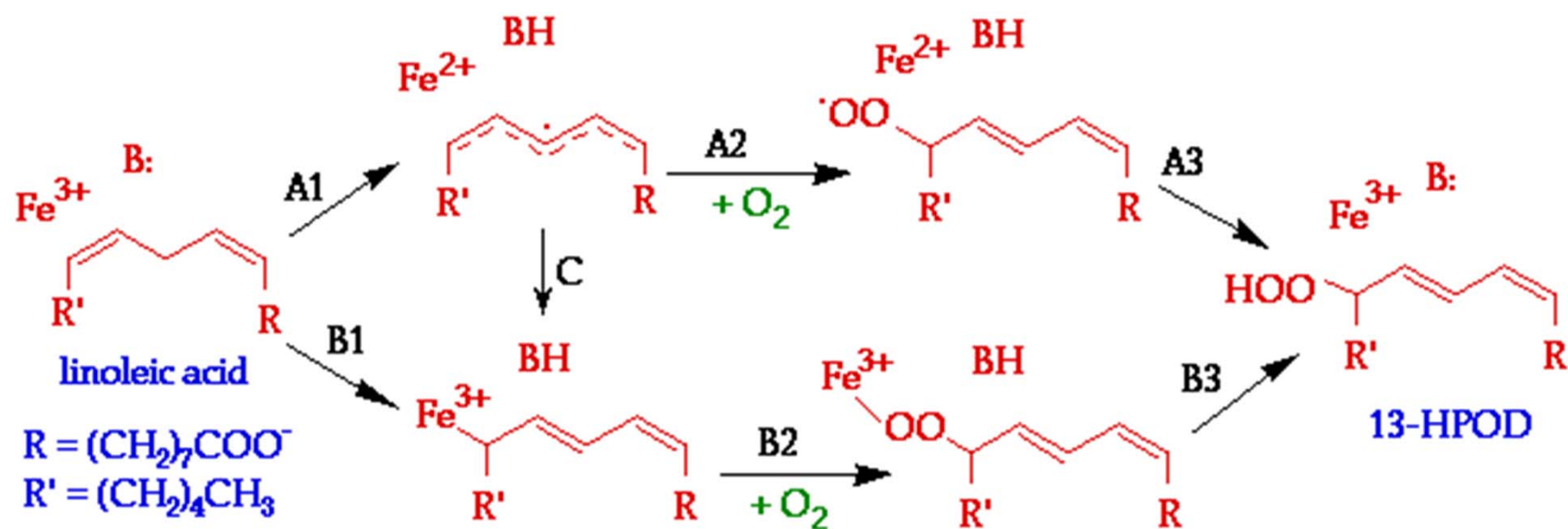


Λιποξυγενάσες - Εισαγωγικά

Το περιορίζον την αντίδραση βήμα είναι η απόσπαση ενός H από το *bis*-αλλυλικό μεθυλένιο του πενταδιενίου από την αντίθετη πλευρά προσθήκης του O₂.

Ο σίδηρος στο ενεργό κέντρο του ενζύμου συμβάλλει στο να δημιουργήσει ένα κύκλο ηλεκτρονίων μέσω ενός οξειδοαναγωγικού μηχανισμού.

Γίνεται απόσπαση H (μετάπτωση Fe³⁺ σε Fe²⁺) και ακολούθως μετατροπή της περοξυ ρίζας του λιπαρού οξέως σε ανιόν υδροπεροξειδίου (μετάπτωση Fe²⁺ σε Fe³⁺).



Η Σημασία των LOX στα Τρόφιμα

Μέσω μιας διαδικασίας συν-οξειδωσης με ελεύθερες ρίζες, είναι γνωστό ότι η ενεργότητα της LOX μπορεί να προκαλέσει καταστροφή χρωστικών, όπως τα καροτενοειδή και οι χλωροφύλλες, αλλά και οξείδωση του ασκορβικού οξέως.

Η ενεργότητα της LOX εικάζεται ότι είναι υπεύθυνη για ένα μεγάλο μέρος τις απώλειας χρωστικών και γενικότερα υποβάθμιση της ποιότητας κατεψυγμένων λαχανικών, τα οποία δεν έχουν υποστεί ζεμάτισμα.

Προϊόντα της δράσης της LOX, όπως τα υδροπεροξειδία των λιπαρών οξέων, διασπώνται είτε χημικώς είτε ενζυμικώς σε οσμοφόρες ενώσεις μικρότερης ανθρακικής αλυσίδας, όπως αλκοόλες, αλδεΐδες και αλκάνια. Οι οσμές αυτές είναι δυσάρεστες και αποτελούν μια γενική κατηγορία υποβάθμισης που ονομάζεται «τάγγιση».

Οι αντιδράσεις που καταλύονται από τη LOX μπορούν να συμβούν ακόμα και σε τρόφιμα με χαμηλή σχετική υγρασία (52%).

Ένζυμα που Επενεργούν στα Υδροπεροξειδία Προϊόντα της LOX

Γενικά, στα ακατέργαστα (ωμά) τρόφιμα, η LOX ενεργεί σε συνέργεια με άλλα ένζυμα μέσω διαδοχικών αντιδράσεων.

Κάθε ακατέργαστο τρόφιμο περιέχει ένα μοναδικό συνδυασμό ενζύμων που εμπλέκονται στη μετατροπή των υδροπεροξειδίων.

Ένα από τα πιο σημαντικά ένζυμα αυτής της κατηγορίας είναι η λυάση των υδροπεροξειδίων. Αυτό το ένζυμο έχει αναγνωριστεί ως ένα κυττόχρωμα P450.

Η λυάση των υδροπεροξειδίων διασπά τα υδροπεροξειδία C-13 των 18:2 και 18:3 λιπαρών οξέων, παράγοντας C-6 αλδεΐδες και C-12 οξοοξέα.

Η οσμή των αλδεϋδών που παράγονται δίνει την εντύπωση τάγγισης και χόρτου («πράσινη» οσμή). Τα υδροπεροξειδία C-9 διασπώνται σε C-9 αλδεΐδες (οσμή αγγουριού) και C-9 οξοοξέα.

Ένζυμα που Επενεργούν στα Υδροπεροξειδία Προϊόντα της LOX

Οι αλδεΐδες που παράγονται μπορούν να μετατραπούν μέσω ενζυμικών αντιδράσεων σε αλκοόλες.

Οι αλκοόλες που παράγονται έχουν σχεδόν το ίδιο αρωματικό προφίλ με τις αλδεΐδες από τις οποίες προήλθαν και μπορούν επίσης να μετασχηματιστούν σε ουσίες όπως ο οξικός εξυλεστέρας, ο οποίος έχει οσμή μήλου.

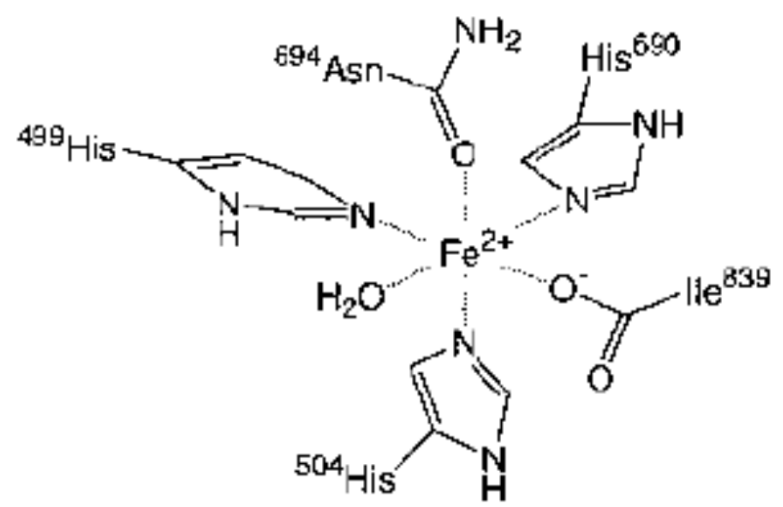
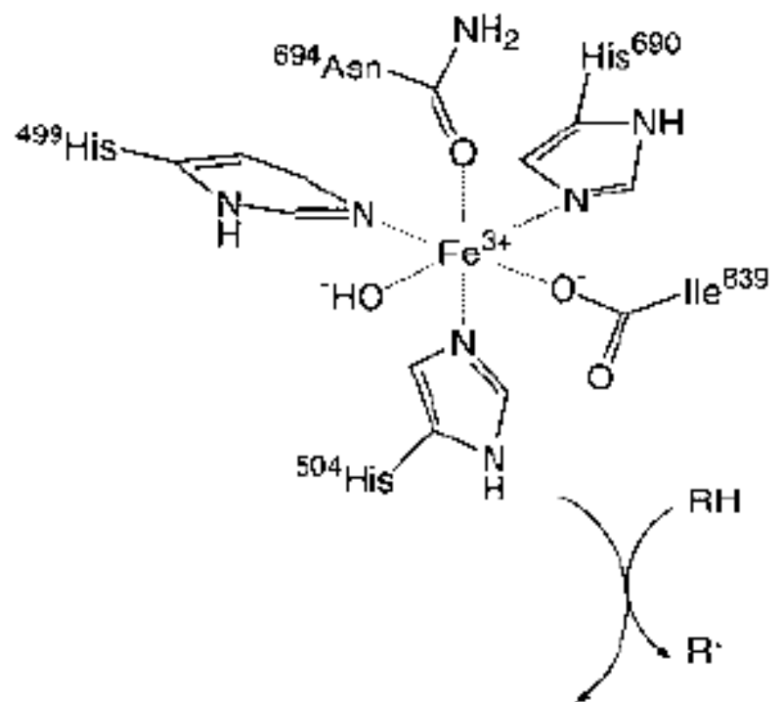
Οι περισσότερες πτητικές αλδεΐδες και αλκοόλες θεωρούνται επιθυμητά αρώματα φρέσκων λαχανικών, εν αντιθέσει με τα πολύπλοκα μίγματα οσμών που προκύπτουν από την ανάπτυξη τάγγισης μέσω αντιδράσεων ελευθέρων ριζών.

Ενζυμικές Ιδιότητες - 1. Μηχανισμός Δράσης

Ο μηχανισμός δράσης είναι ένας οξειδοαναγωγικός κύκλος ενός ηλεκτρονίου που καταλύεται από σίδηρο, που προκαλεί οξείδωση πολυακόρεστων λιπαρών οξέων μέσω ελευθέρων ριζών.

Ο σίδηρος βρίσκεται συμπλοκοποιημένος πάνω στο πρωτεϊνικό μόριο από τρεις ιστιδίνες και μια ισολευκίνη.

Συνδέεται όμως ασθενώς και με ασπαραγίνη, καθώς και με ένα μόριο νερού. Θεωρείται ότι το νερό βρίσκεται υπό τη μορφή ανιόντος υδροξυλίου (OH^-) και μεταπίπτει σε νερό αποσπώντας H από το υπόστρωμα.



Ενζυμικές Ιδιότητες - 2. Επίδραση pH & Αναστολέων

Μελέτες για τη LOX από σόγια έδειξαν ότι είναι γενικά σταθερή σ' ένα εύρος pH.

Παρουσιάζει βέλτιστη ενεργότητα μεταξύ των τιμών 9 και 10, ενώ είναι αμελητέα σε pH 6.5, αλλά το ένζυμο παραμένει σταθερό και σε pH 4.5. Από pH 3 και κάτω έχει παρατηρηθεί μη-αντιστρεπτή απενεργοποίηση.

Οι αναστολείς της LOX μπορεί να είναι αντιοξειδωτικά που «σπάνε» αλυσιδωτές αντιδράσεις περόξυ ελευθέρων ριζών, συμπλοκοποιητές σιδήρου (συχνά αντιστρεπτή), αναγωγείς του σιδήρου και ουσίες που μιμούνται τα υποστρώματα (συνήθως συναγωνιστική).