

301. Über das Lipoxygenase-«Lipoperoxidase»-System in Cerealien: I. Untersuchung der Reaktionsprodukte¹⁾

von W. Heimann und P. Schreier

Institut für Lebensmittelchemie der Universität Karlsruhe

(10. IX. 71)

Zusammenfassung. Nach Inkubation der durch Soja-Lipoxygenase (E. C. 1.13.1.13.) gebildeten Linolsäurehydroperoxide (LHPO) mit einem Hafer-Acetontrockenpulver treten 13-Hydroxy-*cis*-9,*trans*-11-octadecadiensäure und 9-Hydroxy-*trans*-10,*cis*-12-octadecadiensäure auf. Durch Einsatz von [¹⁴C]-LHPO wird nachgewiesen, dass es sich um Umsetzungsprodukte der LHPO handelt. Nach Hitzeinaktivierung bleibt die Umsetzung aus. Die Verbindungen wurden nach Veresterung, katalytischer Hydrierung und Oxydation als 13-Oxo- bzw. 9-Oxo-stearinsäure-methylester massenspektrometrisch identifiziert. Trennung und Reinigung erfolgten jeweils mittels präparativer Schichtchromatographie unter spektroskopischer Kontrolle (UV., IR.). Auf Grund der Ergebnisse kann auf die Beteiligung einer Peroxidase am enzymatischen LHPO-Abbau in Hafer geschlossen werden. Die Beteiligung von Lipoxygenase und Peroxidase an der Biosynthese *cis*-*trans*-konjugierter Hydroxyfettsäuren wird diskutiert.

Das Enzym Lipoxygenase (E. C. 1.13.1.13.) katalysiert die Bildung optisch aktiver [2] *cis*-*trans*-konjugierter Dienhydroperoxide aus ungesättigten *cis*, *cis*-1,4-Pentadiensystemen durch molekularen Sauerstoff [3]. Als Reaktionsprodukte konnten mit Sojabohnen-Lipoxygenase und Linolsäure als Substrat 13-Hydroperoxy-*cis*-9,*trans*-11-octadecadiensäure und 9-Hydroperoxy-*trans*-10,*cis*-12-octadecadiensäure nachgewiesen werden [4] [5].

Obwohl die Produkte der Lipoxygenase-Aktivität somit gut bekannt sind, ist die Funktion des Enzyms im pflanzlichen Stoffwechsel bisher ungeklärt. Auf jeden Fall müssen die Primärprodukte metabolisiert werden, da die gebildeten Hydroperoxide starke Zellgifte sind [6].

Einen enzymatischen Abbau der Linolsäurehydroperoxide (LHPO) haben verschiedene Autoren beobachtet, ohne aber Aussagen über die Reaktionsprodukte zu machen [7] [8]. Neben einer Hydroperoxid-isomerase-Katalyse [9], bei der 13-Hydroperoxy-*cis*-9,*trans*-11-octadecadiensäure zu einem mono-ungesättigten α -Ketol umgesetzt wird, scheint einem peroxidatischen Reaktionsmechanismus eine wesentliche Rolle bei dem enzymatisch katalysierten Hydroperoxid-Abbau in Pflanzensamen zukommen [10]. Basierend auf diesen Befunden versuchten wir, durch Identifizierung der bei dem enzymatischen LHPO-Abbau in Hafer gebildeten Produkte den vermuteten Peroxidase-Mechanismus zu bestätigen.

Den zu Beginn unserer Arbeiten benutzten Enzym-Rohextrakt haben wir später wegen der besseren Handhabung und grösseren Stabilität durch ein Acetontrockenpulver ersetzt.

Während der Inkubation von Linolsäure mit dem Enzympräparat in O₂-Atmosphäre nimmt als Folge der Lipoxygenase-Katalyse erwartungsgemäss die Dien-Absorption bei 234 nm zu. Peroxide liessen sich jedoch nicht nachweisen (Be-

¹⁾ Vorläufige Mitteilung: s. [1].

stimmung nach [8]). Zum Nachweis des Hydroperoxid zerstörenden Faktors wurde in gleicher Versuchsanordnung LHPO-haltige Linolsäure eingesetzt: Die LHPO-Konzentration nahm deutlich ab (Fig. 1). Nach Hitzebehandlung des Rohextraktes blieb die Reaktion aus. Die beobachtete hohe Thermoresistenz des LHPO-Abbaufaktors (Totalinaktivierung nach 10 Min. bei 100°) fügt sich gut in die bisherigen Kenntnisse ein: Die beachtliche Hitzestabilität der Peroxidase ist ein auffallendes Merkmal dieses Enzyms [11].

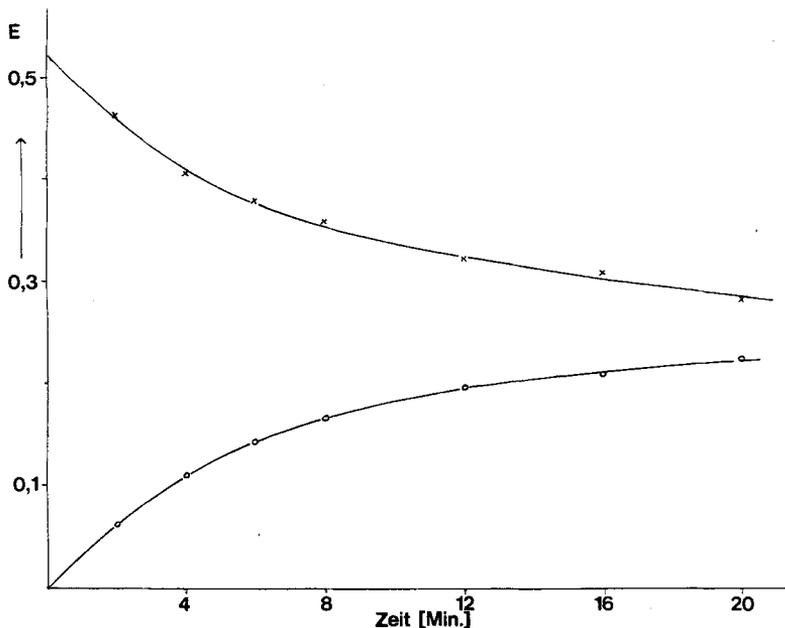


Fig. 1. Vergleich zwischen der Zunahme der Dien-Absorption und des LHPO-Abbaues Durchführung mit LHPO-haltiger Linolsäure als Substrat und jeweils 0,5 ml Rohextrakt (11 mg Protein/ml) bei pH 7,0
 —○—○— Test bei 234 nm nach Surrey [28]
 —x—x— Test bei 480 nm: Zur Peroxid-Bestimmung 0,5-ml-Entnahmen aus 10 ml Substratlösung nach Surrey [28]

Aus dem negativen Ergebnis der Peroxid-Messung und der Feststellung eines Peroxid-Abbaues bei gleichzeitiger Zunahme der Dien-Absorption folgt, dass der LHPO-Abbau rascher erfolgt als die Hydroperoxid-Bildung. Dies hatte schon Rothe [12] auf Grund der Versuche über die Bitterstoffbildung in Hafer postuliert, da in bittergewordenen Produkten Hydroperoxide nicht oder nur in sehr geringer Menge nachweisbar waren. Den kinetischen Messungen (Fig. 1) lässt sich ferner entnehmen, dass in dem bzw. den Produkten des enzymatischen LHPO-Abbaues die durch die Lipoxygenase-Katalyse vorgegebene *cis-trans*-Konjugation erhalten bleibt. Diese Beobachtung wurde auch schon früher bei Sojabohnen-Rohextrakten gemacht [7].

Nachdem auf Grund der kinetischen Messungen keine LHPO-Bildung durch Hafer-Enzym nachweisbar war, haben wir die Reaktionsprodukte nach folgendem Schema untersucht:

I. Darstellung linolsäurefreier LHPO durch Soja-Lipoxygenase.

II. a) Inkubation der LHPO mit Hafer-Acetonrockenpulver. Dünnschichtchromatographische Isolierung der Reaktionsprodukte.

b) Analoger Versuch nach Hitze-Inaktivierung des Enzympräparates.

c) Blindversuch mit LHPO.

III. Versuche IIa–c mit $[^{14}\text{C}]$ -LHPO (Autoradiographie, Dünnschichtscanner).

IV. Identifizierung der Verbindungen (Präparative Schichtchromatographie, UV.-IR.-Kontrolle):

a) *Enzymatische Umsetzungsprodukte der LHPO*: 1. Veresterung; 2. Katalytische Hydrierung; 3. Oxydation.

b) *LHPO*: Nach LiBH_4 -Reduktion: Versuchsführung wie IVa.

c) *Parallelversuche* mit Coriolsäure-methylester (= 13-Hydroxy-*cis*-9, *trans*-11-octadecadiensäure-methylester).

I. Die Darstellung der LHPO und ihre Isolierung mittels präparativer Schichtchromatographie sind im experimentellen Teil beschrieben.

II. Die dünnschichtchromatographische Analyse der enzymatisch gebildeten Umsetzungsprodukte zeigt (Fig. 2), dass neben einer Vielzahl von Verbindungen, die

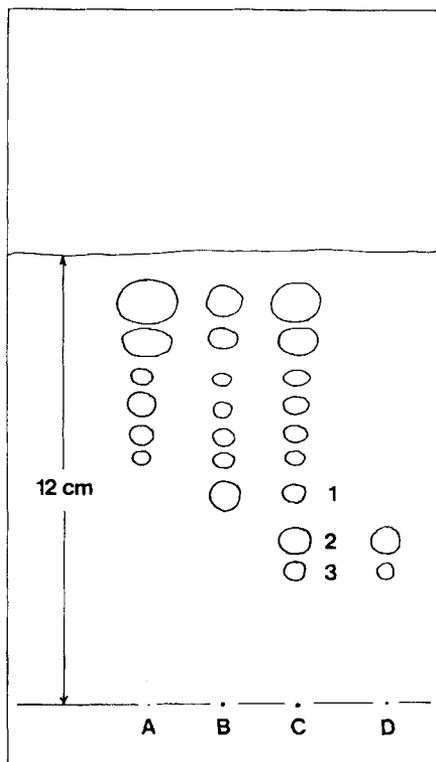


Fig. 2. DC. der enzymatisch gebildeten Umsetzungsprodukte (Versuche IIa–c)

A: Hafer-AP.; B: Hafer-AP. (hitzeinaktiviert) + LHPO(1); C: Hauptversuch: Hafer-AP. + LHPO;
 D: LiBH_4 -Reduktionsprodukte der LHPO(2,3). Pentan + Diäthyläther + Eisessig 60 + 40 + 1,
 Kieselgel GF_{254} , S-Kammer

sämtlich aus dem Acetontrockenpulver stammen, bei Versuch IIa zwei Verbindungen mit den R_f -Werten 36 und 30 neu auftreten.

III. Zur Absicherung dieses Ergebnisses wurden die Versuche IIa–c mit $[^{14}\text{C}]$ -LHPO durchgeführt. Durch Autoradiographie und Auswertung mit einem Scanner (Fig. 3) konnte bestätigt werden, dass ausschliesslich die in Versuch IIa erhaltenen Verbindungen als enzymatische Umsetzungsprodukte der LHPO auftraten.

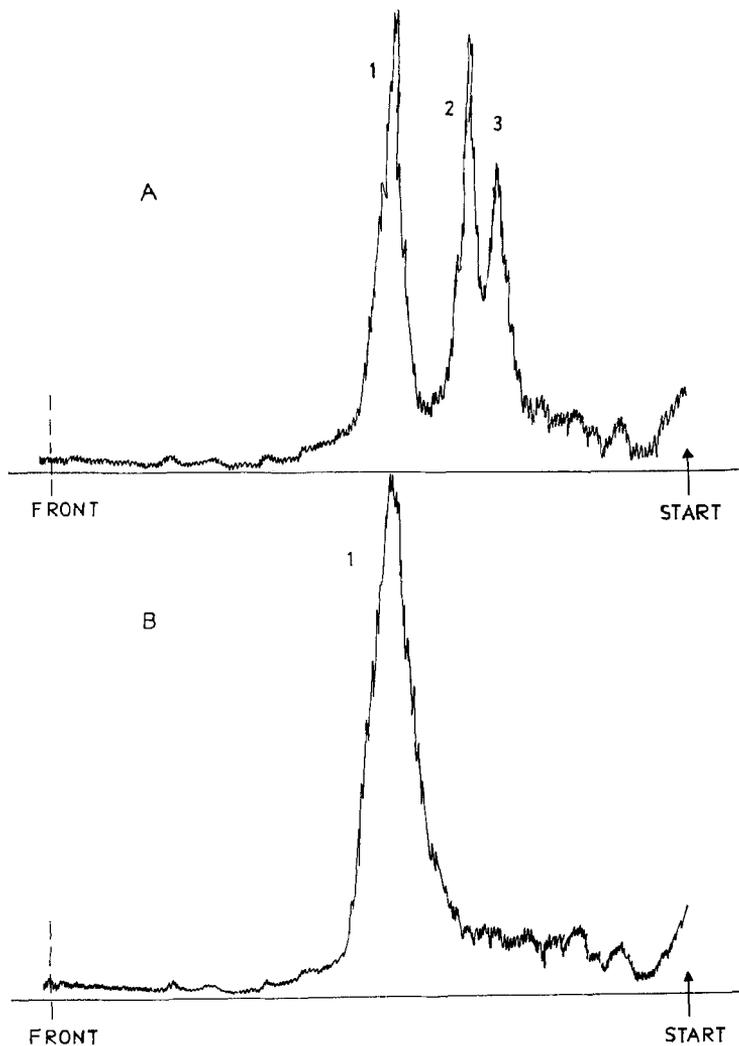


Fig. 3. Versuch III: Auswertung mit dem Dünnschichtscanner

A: Hauptversuch: 1 = LHPO; 2 = 13-Hydroxyoctadecadiensäure; 3 = 9-Hydroxyoctadecadiensäure. B: Blindversuch mit LHPO und hitzeinaktiviertem Hafer-AP.

IV. Nach LiBH_4 -Reduktion der LHPO traten im Dünnschichtchromatogramm zwei Verbindungen mit den R_f -Werten 36 und 30 auf (vgl. Fig. 2). In Verbindung mit

den bei Soja-Lipoxygenase vorliegenden Ergebnissen lag die Annahme nahe, dass es sich hierbei um die Reduktionsprodukte der 13- und der 9-Hydroperoxy-octadecadiensäure handelt. Diese beiden Substanzen wurden daher in die weitere Untersuchung miteinbezogen.

Die IR.-Spektren der mit Diazomethan veresterten LHPO-Reduktionsprodukte, der enzymatischen Umsetzungsprodukte und der Vergleichssubstanz waren identisch (Fig. 4). An wesentlichen Daten liessen sich entnehmen: 3434 cm^{-1} (Valenzschwingung OH-Gruppe), 3010 cm^{-1} , 987 cm^{-1} , 947 cm^{-1} (*cis-trans*-konjugierte Doppelbindung

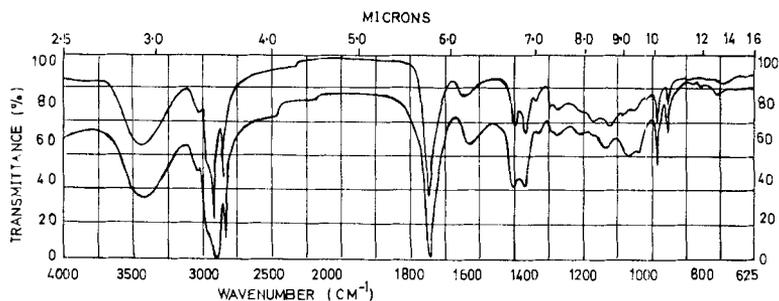


Fig. 4. IR.-Spektren der enzymatisch gebildeten Umsetzungsprodukte

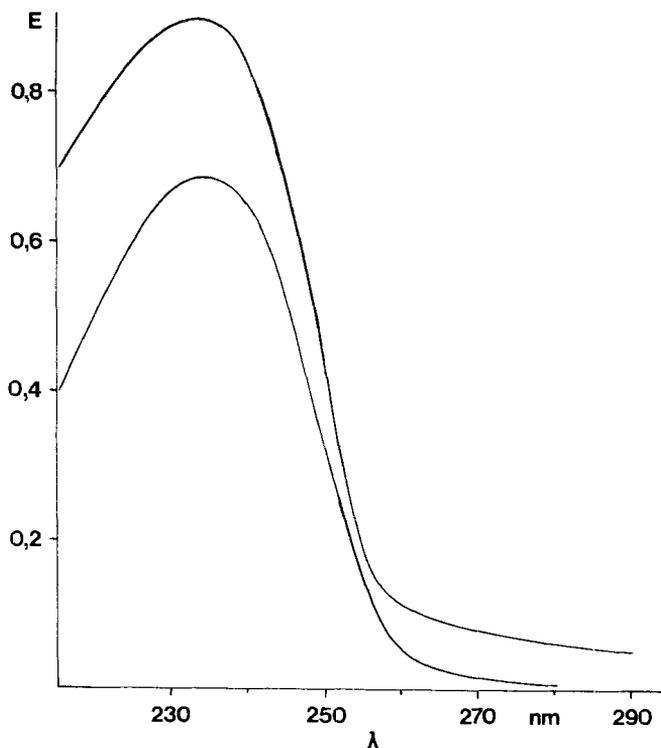


Fig. 5. UV.-Spektren (in Methanol) der mittels präparativer Schichtchromatographie isolierten enzymatischen Umsetzungsprodukte

[13]). Das Ergebnis steht in Übereinstimmung mit den kinetischen Untersuchungen und den UV.-Spektren der enzymatischen Reaktionsprodukte, die ein Maximum bei 234 nm zeigen (Fig. 5).

Nach katalytischer (PtO₂)-Hydrierung der Methylester, dünn-schichtchromatographischer Reinigung und anschließender Oxydation mit CrO₃/Eisessig wurden nach Gas-Chromatographie auf SE-30 die Massenspektren der Substanzen aufgenommen. Wir erhielten für die fünf eingesetzten Verbindungen *zwei* charakteristische Spektren, die dem 13-Oxo- und dem 9-Oxo-stearinsäure-methylester zugeordnet wurden [14] [15].

Bei Betrachtung des allgemeinen Peroxidase-Reaktionsschemas kann aus den Ergebnissen der kinetischen Untersuchungen und der geschilderten Bildung der Hydroxydienfettsäuren aus den durch Lipoxygenase gebildeten LHPO auf die Beteiligung von Peroxidase am enzymatischen LHPO-Abbau geschlossen werden. Wie in Vorversuchen ermittelt wurde, werden die bei der H₂O₂-Peroxidase-Katalyse wirksamen Wasserstoffdonatoren auch von dem LHPO abbauenden Enzym umgesetzt. Es liegt daher nahe, als natürliche Wasserstoffdonatoren die in Hafer vorkommenden phenolischen Antioxydantien [16] anzunehmen.

Die Position der OH-Gruppe, die optische Aktivität, das konjugierte Diensystem und die *trans*-Konfiguration der Doppelbindung neben der OH-Gruppe machen wahr-

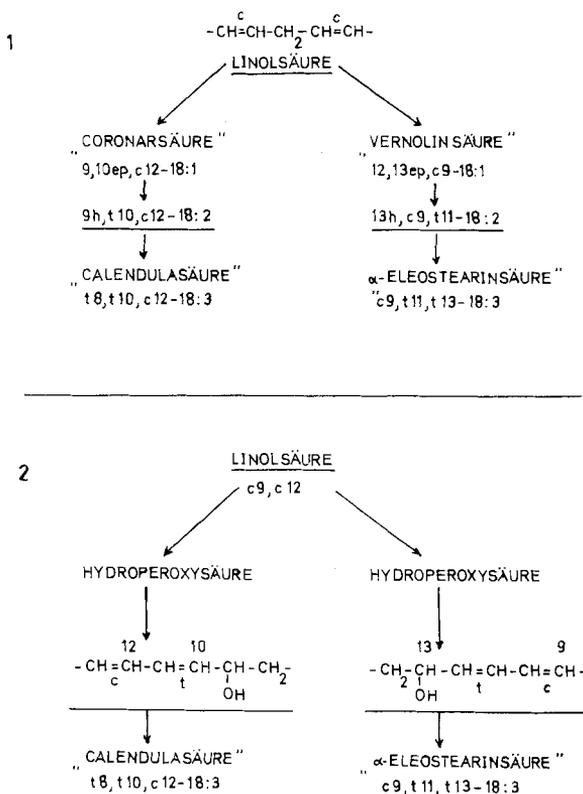


Fig. 6. Biogenesewege der Hydroxy-octadecadiensäuren

scheinlich, dass Lipoxygenase in die Biosynthese der Hydroxy-*cis-trans*-konjugierten Octadecadiensäuren eingeschaltet ist [17]. Diese Auffassung wird von verschiedener Seite vertreten [3] [18] und man nimmt an, dass auf Grund der strukturellen Übereinstimmung der Hydroxydienenfettsäuren und der beiden natürlich vorkommenden Serien von konjugierten Triensäuren (8,10,12-9,11,13) ein gemeinsamer Biogeneseweg vorliegt [19]. Diese Vorstellungen wurden von *Gunstone* über eine Theorie weiterentwickelt, die auf Epoxysäuren als Zwischenprodukten basiert [20]. Die möglichen Reaktionswege beschreibt das Schema der Fig. 6.

Die in diesem Schema dargelegten Vorstellungen werden durch den Nachweis einer 9-D-spezifischen Lipoxygenase gestützt [5] [21]. Die in *Calendula*-Öl vorkommende 9-Hydroxy-*trans-cis*-octadecadiensäure besitzt D-Konfiguration [22]. Sowohl 13-D-Hydroxy- (in *Coriaria*-Öl [23]) als auch 13-L-Hydroxy-octadecadiensäure (in *Monnina*-Öl [24]) kommen natürlich vor. Eine 13-D-spezifische Lipoxygenase ist allerdings noch nicht nachgewiesen worden.

In Zusammenhang mit der erst kürzlich mitgeteilten Bildung der 13-Hydroxy- und 9-Hydroxy-octadecadiensäuren in wässrigen Weizenmehlextrakten [25] fügen sich unsere Befunde folgerichtig in dieses Schema der Biosynthese der Hydroxy-*cis-trans*-octadecadiensäuren über eine Lipoxygenase-Reaktion und anschließende enzymatische Reduktion ein. Die beobachtete Entstehung dieser ungesättigten Substanzen durch eine GSH-Peroxidase aus Rattenleber [26] sowie durch ein Prostaglandin synthetisierendes Enzym tierischen Ursprungs [14] lässt in Verbindung mit den vorliegenden Ergebnissen die Bedeutung dieser Fettsäuren im pflanzlichen und tierischen Stoffwechsel erkennen.

Experimentelles. – *Allgemeines.* Als Versuchsmaterial diente unpräparierter entspelzter Schweden-Hafer (Ernte 1968).

Proteinbestimmungen erfolgten nach der Methode von *Beisenherz et al.* [27].

Die UV.-Spektren wurden im *Zeiss*-Spektralphotometer PMQ II, die IR.-Spektren mit dem *Perkin-Elmer*-Spektrophotometer Mod. 257 in KBr aufgenommen.

Herstellung der Enzympräparate. 125 g mit Aceton kalt entfetteter Haferschrot wurden in 625 ml 0,1 M *Sörensen*-Phosphatpuffer pH 6,8 suspendiert und 6 h bei 0–5° gerührt. Nach Klärzentrifugation (30 Min. bei 20000 × g, 5°) wurde eine gelbgefärbte Lösung erhalten (= Rohextrakt).

Zur Herstellung eines Acetontrockenpulvers (AP.) wurde der Rohextrakt (5°) mit der fünffachen Menge Aceton (–10°) versetzt, wobei ein flockiger hellbrauner Niederschlag ausfiel, der nach mehrstündigem Stehen bei 5° abgenutscht, zweimal mit Aceton-Wasser (5+1, –10°), dreimal mit reinem Aceton (–10°) nachgespült und leicht trockengesaugt wurde. Das Pulver wurde 3–5 h im Vakuum getrocknet, gewogen und bei 3–5° aufbewahrt.

Extraktion des AP. 0,4 g AP. wurden mit 20 ml 0,1 M *Sörensen*-Phosphatpuffer pH 7,0 von 5° 10 Min. im *Bühler*-Homogenisator homogenisiert. Nach 2 Std. Stehen bei 5° wurde 30 Min. bei 20000 × g zentrifugiert. Das Zentrifugat wurde bei 3–5° aufbewahrt und innerhalb von drei Tagen verarbeitet.

Bestimmung der Lipoxygenase-Aktivität. – a) Aus der Änderung der Extinktion bei 234 nm: Die Messungen erfolgten nach dem Verfahren von *Surrey* [28].

b) Aus der Änderung der Extinktion bei 480 nm: Die Bestimmungen erfolgten in Anlehnung an die von *Gini & Koch* beschriebene Methode [8]: Aus dem Linolsäure-Inkubationsansatz (pH 7,0, nach *Surrey* [28]) und Enzymlösung sowie einer Lösung zur Bestimmung des Blindwertes wurden zu bestimmten Zeiten 0,5-ml-Proben entnommen und in 10 ml 96-proz. Äthanol pipettiert. Zur Messung wurde mit 0,1 ml konz. HCl angesäuert und nach 30 Sek. 0,01 ml Eisen(II)-sulfatlösung (5% in 2N HCl) zupipettiert. Zu der gut geschüttelten Lösung wurden 30 Sek. danach 0,5 ml 20-proz. NH₄SCN-Lösung gegeben und genau 3 Min. später wurde die Extinktion in einer 1-cm-

Küvette bei 480 nm gegen 96-proz. Äthanol bestimmt. Von dem Messwert wurde die Extinktion des Blindwertes abgezogen.

Darstellung der Linolsäurehydroperoxide (LHPO). 50 mg Linolsäure (98%, *C. Roth*) wurden in 100 ml 0,05 M *Sörensen*-Phosphatpuffer pH 7,0 nach Zugabe von 2 ml 96-proz. Äthanol emulgiert. Die Emulsion wurde mit 5 mg Soja-Lipoxygenase (*C. Roth*) versetzt und 60 Min. unter Durchleiten von O₂ bei 15° gerührt. Die Lösung wurde mit 2 N HCl auf pH 2-3 angesäuert und dreimal mit je 100 ml Äther extrahiert. Nach dem Waschen mit Wasser wurde der Ätherextrakt über Na₂SO₄ *sicc.* getrocknet, filtriert und im Vakuum auf 2-3 ml eingengt. Die LHPO wurden von der Linolsäure durch zweimalige präparative Schichtchromatographie mit Pentan + Diäthyläther + Eisessig (60 + 40 + 1) (vgl. Analytik der Reaktionsprodukte) abgetrennt; dabei wurde die unter der UV.-Lampe markierte Zone mit dem hRf-Wert 46 jeweils von der Platte geschabt und mit Äther eluiert. Nach der Entfernung des Äthers im Vakuum wurde in einer definierten Menge 96-proz. Äthanol aufgenommen und die Lösung bei -18° aufbewahrt. Der LHPO-Gehalt wurde nach der Bestimmung von E₂₃₄ aus der molaren Absorption 25600 · mol⁻¹ · cm⁻¹ [29] berechnet. Ausbeute: 0,08 mMol.

Die [¹⁴C]-LHPO wurden analog unter Einsatz von 15μCi Linolsäure [(U)-¹⁴C] CFB 40 (*Radiochemical Centre*, Amersham) hergestellt.

Enzymatische Umsetzung und Extraktion der Reaktionsprodukte. 2,5 ml äthanolische LHPO-Lösung (0,08 mMol) wurden in 50 ml 0,05 M *Sörensen*-Phosphatpuffer pH 7,0 emulgiert und mit 400 mg AP.-Protein 30 Min. bei 10° inkubiert. Die Lösung wurde mit 2 N HCl auf pH 2-3 angesäuert und nach Zugabe von etwa 5 ml Äthanol dreimal mit je 50 ml Äther extrahiert. Nach dem Waschen mit Wasser wurde über Na₂SO₄ *sicc.* getrocknet, filtriert und im Vakuum auf 2-3 ml eingengt.

Parallelversuche wurden mit einem Hitze-inaktivierten Enzympräparat (20 Min. in siedendem Äthanol) und ohne Zusatz von Hafer-Enzym durchgeführt.

Analytik der Reaktionsprodukte. Dünnschichtchromatographie (DC.) und präparative Schichtchromatographie (PSC.).

Die DC. und PSC. wurden nach der Arbeitsmethode von *Stahl* [30] ausgeführt. Die Trennungen erfolgten in einer S-Kammer, bei der die Rahmenplatte mit Kieselgel G + 1% Stärke beschichtet war.

DC. der Soja-Lipoxygenase-Reaktionsprodukte. Sorptionsschicht: Kieselgel GF₂₅₄. Fließmittel: Pentan + Diäthyläther + Eisessig 60 + 40 + 1. Linolsäure: hRf 65; LHPO: hRf 46; Nebenprodukte: hRf 36, 30, 14, Start.

Nachweise: a) Fluoreszenzlösung; b) Rosafärbung nach Ansprühen mit N,N-Dimethyl-*p*-phenyldiaminlösung (0,1-proz. in CHCl₃ + Eisessig + Wasser 50 + 50 + 10).

Unter gleichen Versuchsbedingungen wurden die LHPO nach zweimaliger PSC. (Kieselgel PF₂₅₄, 1 mm) frei von Linolsäure erhalten.

DC. der durch Hafer-Enzym gebildeten Reaktionsprodukte. Sorptionsschicht: Kieselgel GF₂₅₄. Fließmittel: Pentan + Diäthyläther + Eisessig 60 + 40 + 1. LHPO: hRf 46; 13-Hydroxy-octadecadiensäure: hRf 36; 9-Hydroxy-octadecadiensäure: hRf 30.

Nachweise: a) Fluoreszenzlösung; b) Ansprühen mit 50-proz. H₂SO₄ und Verkohlung.

Die PSC. erfolgte unter denselben Bedingungen mit Kieselgel PF₂₅₄ (1 mm).

DC. der Hydroxy-octadecadiensäure-methylester. Sorptionsschicht: Kieselgel GF₂₅₄. Fließmittel: Diäthyläther + Pentan 60 + 40. 13-Hydroxy-octadecadiensäure-methylester: hRf 72; 9-Hydroxy-octadecadiensäure-methylester: hRf 68.

Nachweise: a) Fluoreszenzlösung; b) Ansprühen mit 50-proz. H₂SO₄ und Verkohlung.

Unter gleichen Bedingungen erfolgte die PSC. mit Kieselgel PF₂₅₄ (1 mm).

DC. der Hydroxy-stearinsäure-methylester. Sorptionsschicht: Kieselgel G. Fließmittel: Diäthyläther + Pentan 60 + 40. 13-Hydroxy-stearinsäure-methylester: hRf 67; 9-Hydroxy-stearinsäure-methylester: hRf 62.

Nachweise: Ansprühen mit 50-proz. H₂SO₄ und Verkohlung.

Die Kontrolle der katalytischen Hydrierung (s. u.) wurde mit Kieselgel G + 5% AgNO₃ unter obigen Bedingungen durchgeführt.

LiBH₄-Reduktion der LHPO. Die nach I hergestellten LHPO wurden in Äther aufgenommen und die Lösung bis zur Beendigung der Gasentwicklung mit LiBH₄ versetzt. Nach 20 Min. Stehen

bei Zimmertemperatur wurde angesäuert. Die organische Phase wurde abgetrennt, mit Wasser gewaschen, nachextrahiert und eingeeengt.

Methylierung mit Diazomethan. Zu einer ätherischen Lösung von etwa 1 mMol (N-*p*-Tolylsulfonyl)-N-methyl-nitrosamid in etwa 10 ml Äther wurde unter Kühlung 10-proz. alkoholische KOH getropft. Das entstandene CH_2N_2 wurde mittels eines N_2 -Stroms in das Reaktionsgefäß eingeleitet.

Katalytische Hydrierung. Die Hydroxy-octadecadiensäure-methylester wurden in jeweils 2 ml Äthanol gelöst und unter Wasserstoff mit 10 mg PtO_2 als Katalysator in einer Mikroapparatur bis zur Beendigung der Wasserstoffaufnahme geschüttelt.

Oxydation mit CrO_3 in Eisessig. Die Hydroxystearinsäure-methylester wurden jeweils in 1 ml Eisessig aufgenommen und zu 1 ml 96-proz. CH_3COOH (3,4 mg CrO_3 enthaltend) zugegeben. Nach 30 Min. bei 37° wurde mit Methanol versetzt, ausgeäthert, mit Wasser gewaschen, die organische Phase abgetrennt und getrocknet.

Gas-Chromatographie und Massenspektrometrie: Durchführung wie in [1] angegeben.

Messung radioaktiver Proben. Zur Autoradiographie wurden die nach der Entwicklung getrockneten DC.-Platten direkt mit *AGFA-Röntgen*-Papier bedeckt und im Dunkeln 6 Tage exponiert. Danach wurde entwickelt und fixiert.

Zur Aktivitätsmessung wurde der Dünnschichtscanner LB 2721 der Fa. *Berthold*, Wildbad, benutzt. Messbedingungen: Hochspannung 2,8 kV; Helipot: 7,0; Untere Kanalschwelle: 4,0 kV; Verstärkung: 10; Messung integrierend; Papiervorschub: 600 mm/h.

Das Untersuchungsmaterial wurde uns dankenswerterweise von der Fa. *Knorr*, Heilbronn, zur Verfügung gestellt.

Herrn Prof. Dr. *W. H. Tallent*, Northern Regional Research Laboratory, Peoria, Illinois, danken wir für die freundliche Überlassung einer authentischen Vergleichsprobe Coriolsäure-methylester. – Wir danken der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* für die Überlassung eines *Zeiss*-Spektralphotometers PMQ II und dem *Forschungskreis der Ernährungsindustrie* sowie der *AIF* für die Unterstützung der Arbeiten.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] *W. Heimann & P. Schreier*, *Helv.* **53**, 2296 (1970).
- [2] *O. S. Privett, C. Nickell, W. O. Lundberg & P. D. Boyer*, *J. Amer. Oil Chemist's Soc.* **32**, 505 (1955).
- [3] *A. Dolev, W. K. Rohwedder, T. L. Mounts & H. J. Dutton*, *Lipids* **2**, 33 (1967).
- [4] *M. Hamberg & B. Samuelsson*, *Biochem. biophys. Res. Commun.* **21**, 531 (1965).
- [5] *G. A. Veldink, J. F. G. Vliegenthart & J. Boldingh*, *Biochim. biophys. Acta* **202**, 198 (1970).
- [6] *E. Schauenstein, G. Schatz & G. Benedikt*, *Mh. Chem.* **92**, 442 (1961); *J. Zangger, M. Ratzenhofer & E. Schauenstein*, *Z. Krebsforsch.* **64**, 473 (1962).
- [7] *J. A. Blain & T. Barr*, *Nature* **190**, 538 (1961).
- [8] *B. Gini & R. B. Koch*, *J. Food Sci.* **26**, 359 (1961).
- [9] *D. C. Zimmerman & B. A. Vick*, *Plant Physiol.* **46**, 445 (1970).
- [10] *K. Täufel & R. Müller*, *Biochem. Z.* **315**, 381 (1943); *K. Täufel & M. Rothe*, *Fette, Seifen, Anstrichmittel* **67**, 907 (1965).
- [11] *M. Rothe & J. Stöckel*, *Nahrung* **11**, 741 (1967).
- [12] *M. Rothe*, *Fette, Seifen, Anstrichmittel* **56**, 667 (1954).
- [13] *J. R. Chipault & J. M. Hawkins*, *J. Amer. Oil Chemist's Soc.* **36**, 535 (1959).
- [14] *M. Hamberg & B. Samuelsson*, *J. biol. Chemistry* **242**, 5344 (1967).
- [15] *R. Ryhage & E. Stenhagen*, *Arkiv Kemi* **15**, 545 (1960).
- [16] *D. G. H. Daniels, H. G. C. King & H. F. Martin*, *Nature* **191**, 1302 (1961); *D. G. H. Daniels & H. F. Martin*, *Chemistry & Ind.* **1964**, 2058; **1965**, 1763; *J. Sci. Food Agric.* **18**, 589 (1967).
- [17] *L. J. Morris, R. T. Holman & K. Fontell*, *J. Amer. Oil Chemist's Soc.* **37**, 323 (1960).
- [18] *W. H. Tallent, J. Harris, G. F. Spencer & I. A. Wolff*, *Lipids* **3**, 425 (1968).
- [19] *C. R. Smith, T. L. Wilson, E. H. Melvin & I. A. Wolff*, *J. Amer. chem. Soc.* **82**, 1417 (1960); *F. R. Earle, I. A. Wolff, C. A. Glass & Q. Jones*, *J. Amer. Oil Chemist's Soc.* **39**, 381 (1962); *F. R. Earle, K. L. Mikolajzak, I. A. Wolff & A. S. Barclay*, *ibid.* **41**, 345 (1964).
- [20] *F. D. Gunstone*, *Chemistry & Ind.* **1966**, 1551.

- [21] H. W. Gardner & D. Weisleder, *Lipids* 5, 678 (1970).
- [22] R. C. Badami & L. J. Morris, *J. Amer. Oil Chemist's Soc.* 42, 1119 (1965).
- [23] W. H. Tallent, J. Harris, I. A. Wolff & R. E. Lundin, *Tetrahedron Letters* 36, 4329 (1966).
- [24] B. E. Philips, C. R. Smith, Jr. & L. W. Tjarks, *Biochim. biophys. Acta* 210, 353 (1970).
- [25] A. Graveland, *J. Amer. Oil Chemist's Soc.* 47, 352 (1970).
- [26] B. O. Christophersen, *Biochim. biophys. Acta* 164, 35 (1968).
- [27] G. Beisenherz, H. J. Boltze, Th. Bücher, R. Czok, K. H. Garbade, E. Meyer-Arendt & G. Pfeleiderer, *Z. Naturforsch.* 8b, 555 (1953).
- [28] K. Surrey, *Plant Physiol* 39, 65 (1964).
- [29] R. T. Holman, *Arch. Biochemistry* 15, 403 (1947).
- [30] E. Stahl (Hrsg.), «Dünnschichtchromatographie», 2. Aufl. Springer, Berlin–Heidelberg–New York 1967.

302. Über das Lipoxygenase-«Liperoxidase»-System in Cerealien:

II. Charakterisierung des Hydroperoxide-abbauenden Enzyms¹⁾

von P. Schreier und W. Heimann

Institut für Lebensmittelchemie der Universität Karlsruhe

(10. IX. 71)

Zusammenfassung. Durch an Hafer mit einem Ammoniumsulfatpräparat ausgeführten Untersuchungen wird bestätigt, dass am enzymatischen Linolsäurehydroperoxid (LHPO)-Abbau eine Peroxidase beteiligt ist, welche die Bildung von Hydroxy-*cis-trans*-dienfettsäuren aus LHPO katalysiert. Dabei fungieren die aus der H₂O₂-Peroxidase-Katalyse bekannten Verbindungen als Wasserstoffdonatoren. Durch Messungen mit *p*-Phenylendiamin-dihydrochlorid als Wasserstoffdonator werden die für das Enzym charakteristischen Eigenschaften ermittelt.

Unsere bisherigen Ergebnisse [1] fügen sich zwanglos in die von Rothe u. Mitarb. formulierten Vorstellungen [2] über das Prinzip der enzymatischen Veränderungen

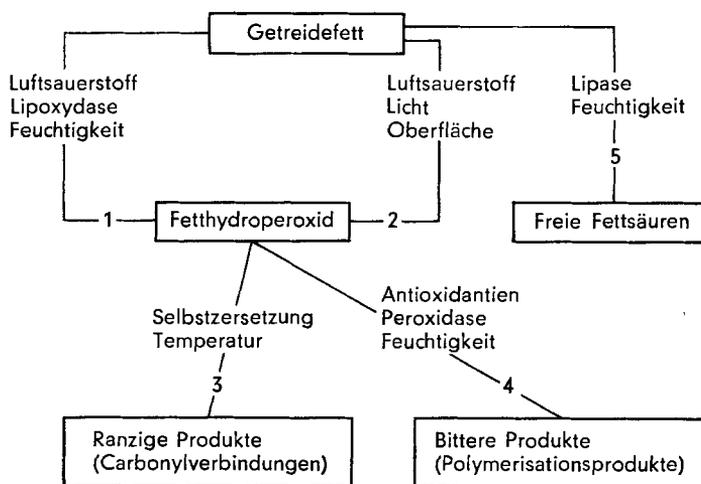


Fig. 1. Wege der Fettveränderungen in Getreideprodukten (nach Rothe u. Mitarb. [2])

¹⁾ I. Mitteilung s. [1].