

# 脂肪氧合酶的研究及应用进展

闫静芳, 王红霞, 郭玉鑫, 陆兆新, 吕凤霞, 王昱泮\*

(南京农业大学食品科技学院, 南京 210095)

**摘要:** 脂肪氧合酶广泛存在于植物和微生物中, 作为面粉改良剂如溴酸钾和过氧化苯甲酰的潜在替代品, 是绿色食品添加剂的研究热点。本文详细综述了脂肪氧合酶的发现历史、结构性质、应用、对粮食和果蔬保藏的影响及其提取方法, 并阐明了其最新研究现状。

**关键词:** 脂肪氧合酶; 结构; 性质; 催化特性; 分离提取

## Application and research progress of lipoxygenase

YAN Jing-Fang, WANG Hong-Xia, GUO Yu-Xin, LU Zhao-Xin, LV Feng-Xia, WANG Yu-Feng\*

(College of Food Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**ABSTRACT:** Lipoxygenase widely exists in plants and microorganisms. As a potential substitutes of flour conditioner such as potassium bromate and benzoyl peroxide, it has been the research focus of green food additives. This paper reviewed the discovery history, structure, properties, application, extraction methods of lipoxygenase and its effects on the preservation of fruits and vegetables and research status.

**KEY WORDS:** lipoxygenase; structure; properties; catalytic properties; extraction

脂肪氧合酶(lipoxygenase, LOX, EC1. 13. 11. 12) 又称脂肪氧化酶, 脂氧酶, 属于氧化还原酶, 是一类含非血红素铁的蛋白质, 能专一催化具有顺, 顺 4-烯结构的多不饱和脂肪酸, 通过分子内加氧, 形成具有共轭双键的氢过氧化衍生物, 可导致果蔬加工制品产生不良的风味, 油脂和含油食品在贮藏和加工过程中色、香、味发生劣变等。但脂肪氧和酶作为绿色食品添加剂可改善小麦粉品质, 在食品、化工等领域都有应用, 其研究对现代食品、工业、发酵等行业的发展具有重要意义。

## 1 脂肪氧合酶的发现历史

脂肪氧合酶(LOX)在动植物界广泛存在, 在豆类中具有较高活力, 尤其以大豆中活力最高。1932年, Andre 等发现大豆中的豆腥味主要由 LOX 引起<sup>[1]</sup>, 1947年 Theorell 等首次从大豆中提取了脂肪氧合酶结晶<sup>[2]</sup>。在随后的 25 年里, 有关脂肪氧合酶的研究进展缓慢。自 1972 年 Chan<sup>[3]</sup>在国际会议上宣布每摩尔大豆脂肪氧合酶(LOX-1)含有 1 摩尔铁后, 有关脂肪氧合酶的研究迅速升温。豆科植物种子如大豆、蚕

基金项目: 中央高校基本业务专项 (KYZ201154)、江苏省高等学校大学生实践创新训练计划项目 (2012JSSPITP0224)、南京农业大学 SRT 计划项目 (1218A01)

**Fund:** Supported by the Fundamental Research Funds for the Central Universities (KYZ201154), Practice Innovation Training Programs for Jiangsu Province College Student (2012JSSPITP0224) and SRT Programs for Nanjing Agricultural University (1218A01)

\*通讯作者: 王昱泮, 博士, 副教授, 主要研究方向为食品功能因子及生物分离。E-mail: joywangyu@sina.com

\*Corresponding author: WANG Yu-Feng, Associate Professor, College of Food Science and Technology, Nanjing Agricultural University, No.1, Weigang Road, Nanjing 210095, China. E-mail: joywangyu@sina.com

豆等中富含脂肪氧合酶。大豆中蛋白含量为40%左右,成熟的种子中,脂肪氧合酶占总蛋白含量的1~2%。大豆中的脂肪氧合酶活性高于其他植物中提取的脂肪氧合酶,从大豆中提取脂肪氧合酶的效率较高。因此大多数的研究都以大豆脂肪氧合酶为模型来进行<sup>[4-6]</sup>。

现知道大豆种子中的 LOX 具有三种同工酶类型,即 LOX-1、LOX-2、LOX-3,在受伤后不久的大豆叶片中也已分离出 LOX-7、LOX-8 两种同工酶,并发现这两种同工酶在幼叶、花和未成熟的荚中都存在,并具有很高的酶活性<sup>[7]</sup>,大豆的 LOX-1 和 LOX-3 的晶体结构已经被鉴定。研究者从水稻成熟种胚中也分离出了三种 LOX 同工酶,根据层析图谱洗脱顺序的不同,分别定名为水稻 LOX-1、LOX-2 和 LOX-3,其中 LOX-1 和 LOX-2 属于第 II 类 LOX,即 13-LOX,而 LOX-3 属于第 III 类 LOX 即 9-LOX<sup>[8]</sup>。另外在藻类、面包酵母、真菌以及霉菌均发现有 LOX 的存在<sup>[9]</sup>。

## 2 脂肪氧合酶的结构性质

### 2.1 结构

脂肪氧合酶(Lipoxygenase, LOX, EC1.13.11.12)属于氧化还原酶,是一类含非血红素铁的蛋白质,能专一催化具有顺,顺-戊二烯结构的多不饱和脂肪酸及酯,通过分子内加氧,形成具有共轭双键的氢过氧化衍生物<sup>[2]</sup>。

脂肪氧合酶活性部位的结构尚不完全清楚,其活性部位的基团可能含有铁、芳香族氨基酸残基和蛋氨酸残基等。大豆 LOX-1 模型中<sup>[9]</sup>,铁离子中心含有5个内源配体和1个外源配体。内源配体包括三种组氨酸残基(His<sup>499</sup>, His<sup>504</sup>, His<sup>690</sup>),一个 Ile<sup>839</sup> 残基以及一个 Asn<sup>694</sup>,外源配体为水分子。

### 2.2 性质

#### 2.2.1 底物特异性

LOX 对作用底物具有结构特异性的要求,含有顺,顺-戊二烯结构的不饱和脂肪酸、脂肪酸酯都可以作为 LOX 的底物。在植物中其天然底物主要是亚油酸(linoleic acid)和亚麻酸(linolenic acid),在动物体内其天然底物主要是花生四烯酸(arachidonic acid)。

LOX 来源不同,底物不同,都会导致其加氧的位置不同,因而产物也不同。LOX-1 的底物为不饱和

脂肪酸,产物为 13-氢过氧化物,LOX-2 的底物为酯化底物,产物为 9-或 13-氢过氧化合物<sup>[10]</sup>。

#### 2.2.2 最适温度和 pH 值

不同来源的 LOX 最适 pH 值不同,水稻 LOX 最适温度为 30 °C,最适 pH 为 7.6;蚕豆种子的最适温度为 30 °C,最适 pH 为 6;黄瓜 LOX 的最适温度较高,为 40 °C,最适 pH 为 7;番茄在 20 °C, pH 为 6 时具有最高活性<sup>[11]</sup>。Yabuuchi<sup>[12]</sup>和 Tappel 等<sup>[13]</sup>报道,大豆三种脂肪氧合酶(LOX1、LOX2 和 LOX3)的最适 pH 值不同,LOX2、LOX3 为 6~7,而 LOX1 的最适 pH 值为 9。LOX2 和 LOX3 在 68 °C 时迅速失活,而 LOX1 至少需要 2 min 才能失活,LOX3 在 60 °C 时,需要 15~30 min 失活,LOX2 在 5 min 内失活。刘夫国等<sup>[14]</sup>研究表明,鲜食玉米胚中 LOX 活性显著高于鲜食玉米籽粒,其最适反应温度为 55 °C,最适反应 pH 值为 6.0,最适底物浓度为 8.0 mmol/L,提高温度和延长处理时间能有效地钝化 LOX。

#### 2.2.3 LOX 的催化特性

在催化反应机制上, Tappel 等认为, LOX 所催化氧化的亚油酸不同于亚油酸自动氧化过程<sup>[13]</sup>。首先是亚油酸氧合 LOX 形成复合体;再在酶的表面形成一个双游离基活化体,即一个氢离子和一个电子从亚油酸上转移至氧分子上;双游离基在酶分子表面结合形成亚油酸过氧化氢;此过氧化氢物与酶分离并脱落下来。而自由基理论认为:首先氢原子从底物上离开,同时铁离子被还原;分子氧与底物自由基反应,形成过氧化自由基,在此过程中有可能伴随 O<sub>2</sub> 转变成 O<sub>2</sub>·自由基,最后过氧自由基被 LOX 中的铁还原,生成氢过氧化物,而 LOX 中的铁转变为 Fe<sup>3+</sup>,重新转变为活性态<sup>[15]</sup>。近年来,大豆 LOX 中质子电子的转移反应证实了 LOX 反应过程中的氢转移理论<sup>[16]</sup>,认为催化的氢原子从底物亚油酸转移到铁离子上;质子和电子同时在供体和受体之间转移;从而产生有效的氢隧道效应。因此,从以上几种理论都可以看出 LOX 催化中心与铁离子有着密切的关系<sup>[10]</sup>。

## 3 脂肪氧合酶的应用

### 3.1 脂肪氧合酶在食品中的应用

脂肪氧合酶用于小麦粉中,可氧化面粉中的色素,使之褪色,使面制品增白,氧化不饱和脂肪

酸使之形成过氧化物,过氧化物可以氧化蛋白质分子中的硫氢基团形成二硫键,从而提高面筋的筋力<sup>[9,17,18]</sup>。

LOX 催化氧化多不饱和脂肪酸,产生氢过氧化物,氢过氧化物通过均裂或 $\beta$ -裂变分解,形成醛、酮等二级氧化产物,氢过氧化物进一步裂解成不饱和醛类、酮类和醇类化合物,形成类似苹果、香瓜、芒果等水果风味以及鲜鱼味、牡蛎味、文蛤味和海藻香、青草香等挥发性风味物质<sup>[8]</sup>,若添加至食品中,会给人以十分新鲜的感觉。

植物油中不饱和脂肪酸的含量要比动物油高很多,因而对以植物油为原料的酶催化制备香料的研究报道较多。Whitehead 等<sup>[19]</sup>以亚油酸和亚麻酸、粗大豆为原料,结合 HPL 及面包酵母,生产己醇、2-(E)-己烯醛、3-(Z)-己烯-1-醇、己醛、2-(E)-己烯-1-醇。Gargouri 等<sup>[20]</sup>使用的原料为亚油酸,生成 9-氢过氧化物,经过裂解产生具有黄瓜香气的 3-(Z)-壬烯醛,在食品和化妆品中均有应用。Marczy 等用葵花油、LOX 和菠菜中的 HPL 在水相体系中制备己醛,底物浓度为 0.1 mol/L,13-HPOD 的转化率为 72%,己醛的转化率为 54%<sup>[21]</sup>。Muller 等<sup>[22]</sup>用葵花籽油和豆粉生成 13-HPOD,并与番石榴叶中的 HPL 作用,制备出纯度为 96%的己醛,同时还用亚麻籽油和豆粉,制备出 3-(Z)-己烯醛。Noordermeer 等<sup>[23]</sup>用亚麻籽油、红花油、LOX 以及紫花苜蓿中的 HPL,制备出产率为 50%的己醛。此外 Kangsadan<sup>[24]</sup>和陈书婷等<sup>[25]</sup>从海藻中提取 LOX,并以花生四烯酸为原料,生成了 12-花生四烯酸氢过氧化物,同时产生了少量的 15-花生四烯酸氢过氧化物,在裂解酶的存在下前者裂解成 3-(Z)-己烯醛,后者裂解成己醛。

### 3.2 脂肪氧合酶在植物生理中的应用

许多研究结果认为脂肪氧合酶在植物生理如植物萌发、生长、发育、衰老和抗性物质转化中起某种重要调节作用,会影响植物脂肪在萌发期的氧化,脂肪过氧化形成乙烯影响植物叶片衰老,脂肪氧化影响种子的衰老、死亡、果蔬催熟和脱落,可以运用于植物抗病、抗虫和伤害反应中<sup>[26]</sup>。

脂肪氧合酶与植物抗病性的关系在小麦、烟草、水稻、棉花等作物上都有报道,当植物受到病原菌感染时,植物组织内脂肪氧合酶的活性迅速提高,并产生相应的氧化物阻止病原体进一步侵染。Song 等<sup>[27]</sup>

研究了大豆组织中脂肪氧合酶活性对病原体入侵的反应,发现组织中己醛含量为种子发芽的非致死剂量时会抑制镰刀菌(*Fusarium*)和交链孢菌(*Alternaria*)的生长。

### 3.3 脂肪氧合酶在工业中的应用

脂质的氢过氧化物除了可用于产生许多风味物质外,也可用于染料、涂料、洗涤剂、聚氯乙烯增塑剂的工业化生产,还可作为药物合成的中间体,所以脂肪氧合酶也被用于其他工业催化用途,使植物油脂转变为高附加值的产品。

增塑剂绝大部分以石油为原料来制备,若利用脂肪氧合酶对脂肪酸或脂肪酸酯进行选择催化,形成特定的氢过氧化脂肪酸及其酯的衍生物,再将其环氧化,生成环氧化油,则可减小石油用量;氢过氧化油脂经还原得到羟基油脂,经过氧化物酶裂解得到不饱和酸及醛,再进一步反应可以得到二元酸,这些物质在食品、化工、生物技术等领域都有重要用途<sup>[3,5,6,27-31]</sup>。

## 4 脂肪氧合酶对粮食及果蔬保藏的影响

脂肪氧合酶会产生两种有害的副作用,一是造成有营养价值的多不饱和脂肪酸损失,二是产生导致酸败的氧化产物,在哺乳动物代谢中它们参与类二十烷酸的生成。脂肪氧合酶催化不饱和脂肪酸生成的氧化产物导致果蔬加工制品产生不良的风味,如大豆及其制品的豆腥味,油脂及含油食品在其加工和储藏过程中色、香、味的劣变。因此,对脂肪氧合酶活性的抑制也将成为今后的研究重点。

Borrelli 等<sup>[32]</sup>研究表明,降低 LOX 活性有利于延长杜仓小麦籽粒、通心粉和通心面等的保存期,进而提高产品的附加值,其他研究者对普通小麦的研究得出了相似的结果<sup>[33,34]</sup>。另一些研究认为,低活性 LOX 或 LOX 缺失体可以有效减轻脂质的氧化反应,减轻籽粒的氧化变质,从而延长其储藏期,减少粮食的浪费<sup>[35]</sup>。同时降低 LOX 活性被认为是长期保存种子的重要方法之一,这比冷冻储藏更加可行<sup>[4]</sup>。

LOX 对植物细胞膜有破坏作用,引起植物机体的成熟与衰老。有人认为,LOX 不能直接作用于生物膜系统中的不饱和脂肪酸,而需要磷脂酶的协同作用<sup>[31]</sup>,但 LOX 确实是酶促脂质过氧化的重要因子,其能催化游离的不饱和脂肪酸产生的脂质过氧化自

由基,直接作用于膜磷脂中的结合态不饱和脂肪酸,导致磷脂双分子层的破坏,磷脂双分子层一旦遭到破坏,细胞膜的透性就会大大增加,溶质开始渗漏,膜的分室效应丧失,使代谢紊乱和机体衰老<sup>[36]</sup>。另外,LOX催化产生的自由基、过氧化物、丙二醛等能对机体的活性物质如DNA、RNA、酶等造成伤害<sup>[31]</sup>。脂肪氧合酶能直接或间接参与多种代谢反应,具有多方面的生化作用<sup>[37]</sup>。

## 5 脂肪氧合酶的提取

提取脂肪氧合酶的方法主要有水浸提法、盐析法及共沉淀法3种<sup>[4,5,27,38]</sup>。

### 5.1 水浸提法

水浸提法得到的是粗酶液。将大豆粉浸入水中,搅拌一定时间后,离心取上清液即得脂肪氧合酶粗酶液。水浸提法的蛋白质溶出率可达85%,所得酶液中含有较多的杂蛋白。此方法过程简单,减少了操作过程对酶活的损伤,因此得到粗酶液的总酶活较高。蔡琨等<sup>[28]</sup>用脱脂豆粉先加水搅拌,再进行离心分离,得到脂肪氧合酶粗酶液的总酶活为 $6.71 \times 10^6$  U/g 豆粕,比酶活为 $8.61 \times 10^5$  U/mL 粗酶液。

### 5.2 盐析法

盐析法是比较古老的方法,目前仍广泛采用,根据酶和杂蛋白在高浓度盐溶液中的溶解度差别进行分离纯化。其原理是:根据酶和杂蛋白在高盐浓度下的溶解度不同进行分离纯化。低盐浓度下,酶的溶解度随盐浓度升高而增加,当盐浓度升高到一定值后,酶的溶解度又随盐浓度的升高而降低,结果使酶沉淀出来<sup>[31,39]</sup>。最常用的中性盐是硫酸铵,这是由于硫酸铵在水中的溶解度大且温度系数小,不影响酶的活性,分离效果好,而且价廉易得。二次盐析法是用较低盐浓度除去杂蛋白,再用较高盐浓度进行分离纯化。Finazzi等<sup>[40]</sup>先将脱脂豆粉放入100 mL烧杯中,加入pH 6.8的磷酸盐缓冲液,搅拌1.5 h,用双层纱布过滤,滤液用硫酸铵调饱和度至0.50,用0.50 mol/L的氢氧化钠溶液调滤液到pH 6.8,静置,再用4000 r/min的离心机离心10 min,沉淀物用100 mL磷酸盐缓冲液溶解,再用硫酸铵调饱和度至0.30,调pH至6.8,静置,离心分离,沉淀物即为大豆脂肪氧合酶,于4℃储存备用<sup>[41]</sup>。

### 5.3 沉淀法

共沉淀法利用离子型表面活性剂如十二烷基硫酸钠、非离子型聚合物如PEG等,在一定条件下能与蛋白质直接或间接地形成络合物,使蛋白质沉淀析出;然后再用适当方法使需要的酶溶解出来,除去杂蛋白和沉淀剂,从而达到纯化目的。PEG无毒、溶解时散热低、形成沉淀的平衡时间短,一般当PEG的浓度达到30%时,就可以使大部分蛋白质沉淀出来<sup>[10]</sup>。

沉淀法制取脂肪氧合酶包括有机溶剂沉淀法、聚合物沉淀法等方法。

以大豆作原料,利用聚乙二醇共沉淀生产脂肪氧合酶的步骤如下:将大豆粉碎,加水并用盐酸调pH值,搅拌,过滤;滤液中加入聚乙二醇,继续搅拌,离心分离,用盐缓冲液溶解沉淀,滤去不溶物得到酶液。

经以上方法得到的脂肪氧合酶纯度一般较低,需进一步纯化,进一步分离提纯的方法主要有盐析法、有机溶剂沉淀法、聚合物沉淀法、双相分离法<sup>[26]</sup>、透析、离子交换柱层析、凝胶过滤以及各种电泳技术分离和鉴定<sup>[42]</sup>。江南大学陈书婷等<sup>[43]</sup>硫酸铵沉淀及过DEAE-Sephrose FF柱分离纯化大豆脂肪氧合酶,结果表明:对脂肪氧合酶过一次DEAE-Sephrose FF层析柱,其纯化倍数是29.9,回收率达30.9%。

如今,脂肪氧合酶已不仅局限于从大豆中提取,提取方法也越来越多。王卫东等<sup>[44]</sup>采用硫酸氨沉淀和羟基磷灰石柱层析法分离白鲢鱼肌肉脂肪氧合酶,同时采用反相高压液相(RP-HPLC)检测其反应产物,对鲢鱼肌肉LOX进行鉴定,并研究了鲢鱼肌肉LOX的底物特异性。

## 6 脂肪氧合酶的研究热点

对脂肪氧合酶的研究大约已有70多年的历史,无论是在LOX生化特性还是在基因的克隆及表达上都有很大的进步。很多研究者开始研究LOX对外界不良环境及生理条件的影响,其目的是为了研究出能够产生抗性的植株。同时研究者也开始利用基因沉默、基因删除等手段进行转基因植物的研究,同时对LOX产物分析的方法也在不断地改进,从而大大推动了LOX途径及代谢产物生理作用的研究。在工业

上 LOX 应用前景也将非常广阔,可用于染料、涂料、洗涤剂或聚氯乙烯增塑剂等的工业化生产。

我国对脂肪氧合酶的研究起步较晚,对其动力学、分子生物学以及抑制机制是今后应重点加强的基础理论研究。许多实验表明,LOX 具有氧化生物膜的能力,其作用机制有待深入探讨。由于脂肪氧合酶对油脂的氧化作用,导致一些食品品质下降,货价期相对缩短,因此,对脂肪氧合酶的抑制机制及抑制方法的研究也具有重要的意义。曹玉敏等<sup>[45]</sup>研究了高静压技术(HHP)对豆浆中脂肪氧合酶活性的钝化作用并进行失活动力学分析,表明 HHP 处理能显著钝化豆浆中 LOX 活性。此外,利用现代分子生物学技术手段,从分子水平深入揭示 LOX 对植物不同器官、组织及细胞衰老的作用机制,进而采用多种方法调控由多条代谢途径组成的植物衰老系统,设计出更好的调控衰老战略方法,并使其应用到经济作物上,这样才能实现最大的理论和现实价值<sup>[11]</sup>。

获取脂肪氧合酶新方法的研究。南京农业大学张充等<sup>[46]</sup>已克隆了鱼腥藻 PCC7120 基因组中脂肪氧合酶(ana-LOX)基因,对该功能基因进行了定点突变研究,确定了 ana-LOX 的最短功能基因长度,构建原核重组表达载体,对重组 ana-LOX 进行了分离纯化和性质研究,而重组 ana-LOX 能够改善面团的显微结构。章栋梁等<sup>[47]</sup>采用 Plackett 设计法,对影响重组枯草芽孢杆菌发酵产脂肪氧合酶的 7 个相关因子进行筛选,并建立枯草芽孢杆菌产脂肪氧合酶的最佳工艺。郭芳芳等<sup>[48]</sup>采用化学渗透法、冻融法和酶解法破碎重组 *E.coli* 细胞,并采用单因素试验和 L25 ( $5^6$ )正交试验对细胞破碎条件进行优化,建立了适用于从重组 *E.coli* 中提取重组脂肪氧合酶非机械法的破碎条件,获得粗酶液的脂肪氧合酶(LOX)酶活力为 6840 U/mL,比优化前(4750 U/mL)提高了 0.44 倍。

María 等克隆了西兰花基因组中的脂肪氧合酶(BoLOX1)基因,序列分析显示,BoLOX1 和其他高等植物脂肪氧合酶相似,并分析了该基因的表达,结果表明 BoLOX1 在植物采后衰老过程中有较大提高<sup>[49]</sup>。María 等克隆了橄榄脂肪氧合酶 cDNA(Oep2LOX1),并对光照,温度,损伤对脂肪氧合酶在橄榄果表皮中的表达的影响进行了研究<sup>[50]</sup>。

根据近十几年的国内外资料,目前国内外对脂肪氧合酶的性质,氧化途径及与植物衰老,胁迫反应,

信号分子合成的生理,生化功能,提取工艺,分离纯化技术等方面都进行了比较全面的研究,正进一步应用于化工工业生产和食品工业等方面。

## 7 总 结

脂肪氧合酶在自然界存在广泛,具有广泛的应用,可用做食品添加剂、染料、涂料、增塑剂等多方面。若能对其氧化机制进行深入研究,在果蔬加工及食品储存中抑制其活性,同时找到一种简单、方便、廉价的用于大批量获取脂肪氧合酶的方法,将会给人类社会带来重大改变。对脂肪氧合酶提取的研究也还在不断进行中。相信脂肪氧合酶将会发挥越来越大的作用。

## 参考文献

- [1] Andre E, Hou KW. The presence of a lipid oxidase in soybean, Glycine Soya [J]. Lieb CR Acad Sci, 1932, 194: 645-647
- [2] 何婷, 赵谋明, 崔春. 脂肪氧合酶的酶学特性及其活性抑制机理的研究 [J]. 食品工业科技, 2008, 29(2): 291-293.  
He T, Zhao MM, Cui C. Study on enzymatic properties and inhibition mechanism of lipoxygenase [J]. Sci Technol Food Ind, 2008, 29(2): 291-293.
- [3] Chan HWS. Soybean lipoxygenase: an iron-containing dioxygenase [J]. Biochim Biophys Acta, 1973, 327: 32-35.
- [4] 费鹏. 脂肪氧合酶及其对小麦品质的影响 [D]. 华中农业大学, 2011.  
Fei P. Effects of Lipoxygenase on Wheat Quality [D]. Huazhong Angricultural University, 2011.
- [5] 蔡琨. 大豆脂肪氧合酶好氧催化合成亚油酸氢过氧化物 [D]. 江南大学, 2004.  
Cai K. Synthesis of linoleic acid hydroperoxide catalyzed by soybean lipoxygenase under aerobic condition [D]. Jiangnan University, 2004.
- [6] 王金龙, 李增禄, 李星华, 等. 大豆脂肪氧化酶遗传与改良研究现状 [J]. 山东农业科学, 1996, 4: 47-51.  
Wang JL, Li ZL, Li XH, et al. Research status in genetic and Improvement of soybean lipoxygenase [J]. J Shandong Agr Sci, 1996, 4: 47-51.
- [7] Saravitz DM, Siedow JN. The differential expression of wound-inducible lipoxygenase genes in soybean leaves [J]. Plant Physiol, 1996, 110(1): 287-299.
- [8] Ida S, Masaki Y, Morita Y. The isolation of multiple forms and product specificity of rice lipoxygenase [J]. Agr Biol Chem, 1983, 47(3): 637-641.
- [9] 姜启兴, 许艳顺, 曹颖. 小球藻脂肪氧合酶酶学性质研究 [J].

- 食品工业科技, 2009, 30(6): 102–104.
- Jiang QX, Xu YS, Cao Y. Study on enzymatic properties of lipoxygenase from *Chlorella pyrenoidosa* [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2009, 30(6): 102–104.
- [10] Cumbee B, Hildebrand DF, Addo K. Soybean flour lipoxygenase isozymes effects on wheat flour dough bread making properties [J]. *J Food Sci*, 2006, 2(62): 281–283.
- [11] 李彩凤, 赵丽影, 陈业婷, 等. 高等植物脂氧合酶研究进展 [J]. *东北农业大学学报*, 2010, 41(10): 143–149.
- Li CF, Zhao LY, Chen YT, *et al.* Research advances on higher plant lipoxygenase [J]. *J Northeast Agr Univ*, 2010, 41(10): 143–149.
- [12] Yabuuchi S, Lister RM, Axelrod B, *et al.* Enzyme-linked immunosorbent assay for the determination of lipoxygenase isoenzymes in Soybean [J]. *Crop Sci*, 1982, 22(2): 333–337.
- [13] Tappel AC, Boyer PD, Lundberg WO. The reaction mechanism of soybean lipoxygenase [J]. *J Biol Chem*, 1952, 199: 267–281.
- [14] 刘夫国, 金邦荃, 牛丽影, 等. 鲜食玉米脂氧合酶的酶学性质 [J]. *食品科学*, 2013, 34(3): 198–201.
- Liu FG, Jin BQ, Niu LY, *et al.* Lipoxygenase activity of fresh corn [J]. *Food Sci*, 2013, 34(3): 198–201.
- [15] Borowski T, Broclawik E. Catalytic reaction mechanism of lipoxygenase: a density functional theory study [J]. *J Phys Chem B*, 2003, 107: 4639–4646.
- [16] Schiffer SH. Hydrogen tunneling and protein motion in enzyme reactions [J]. *Accounts Chem Res*, 2006, 39: 93–100.
- [17] Frazier PJ, Leigh DFA, Daniels NWR, *et al.* The effect of lipoxygenase action on the mechanical development of wheat flour doughs [J]. *J Sci Food Agr*, 2006, 4(24): 421–436.
- [18] Addo K, Burton D, Stuart MR, *et al.* Soybean flour lipoxygenase Isozyme mutant effects on bread dough volatiles [J]. *J Food Sci*, 2006, 3(58): 583–585.
- [19] Whitehead IM, Muller BL, Dean C. Industrial use of soybean lipoxygenase for the production of natural green note flavor compounds [J]. *Cereal Food World*, 1995, 40(4): 193–197.
- [20] Gargouri M, Legoy M. Biosynthesis and analysis 3Z-nonenal [J]. *Biotechnol Lett*, 1998, 20(1): 23–26.
- [21] Marczy JS, Nemeth AS, Samu Z, *et al.* Production of hexanal from hydrolyzed sunflower oil by lipoxygenase and hydroperoxide lyase enzymes [J]. *Biotechnol Lett*, 2002, 24: 1673–1675.
- [22] Muller B, Gautier A, Dean C, *et al.* Process for the enzymatic preparation of aliphatic alcohols and aldehydes from linoleic acid, linolenic acid, or a natural precursor [P]. US, 5,464,761. 1995-11-7.
- [23] Noordermeer MA, Goot W, Kooij AJ, *et al.* Development of a biocatalytic process for the production of C6-Aldehydes from vegetable oils by soybean lipoxygenase and recombinant hydroperoxidase [J]. *J Agr Food Chem*, 2002, 50(15): 4270–4274.
- [24] Boonprabk, Matsui K, Akakabe Y, *et al.* Hydroperoxy-arachidonic acid mediated n-hexanal and (Z)-3-and (E)-2-nonenal formation in *Laminaria angustata* [J]. *Phytochemistry*, 2003, 64(3): 809–818.
- [25] 陈书婷. 脂肪氧合酶的分离纯化及其催化多不饱和脂肪酸的研究[D]. 江南大学, 2011.
- Chen ST. The study of purification of soybean lipoxygenase and its catalysis of polyunsaturated fatty acids [D]. Jiangnan University, 2011.
- [26] 陈艳君. 大豆脂肪氧合酶抑制剂根皮素的合成及性能研究[D]. 江南大学, 2008.
- Chen YJ. The synthesis and applied of lipoxygenase inhibitor phloretin [D]. Jiangnan University, 2008.
- [27] Song WY, Wang GL, Chen LL, *et al.* A receptor-like protein kinase encoded by the rice disease resistance gene Xa21 [J]. *Science*, 1995, 270: 1804–1806.
- [28] 蔡琨, 周建东, 方云, 等. 大豆脂肪氧合酶催化合成亚油酸氢过氧化物 [J]. *精细化工*, 2005, 22(1): 74–77.
- Cai K, Zhou JD, Fang Y, *et al.* Synthesis of linoleic acid hydroperoxide catalyzed by soybean lipoxygenase [J]. *Fine Chem*, 2005, 22(1): 74–77.
- [29] Cuperus FP, Derksen JTP. High value-added applications from vernolic acid. *Progress in new crops* [M]. Alexandria VA: ASHS Press, 1996.
- [30] Grechkin AN, Kuramshin RA, Latypov SK, *et al.* Hydroperoxides of  $\alpha$ -ketols, novel products of the plant lipoxygenase pathway [J]. *Eur J Biochem*, 1991, 199(2): 451–457.
- [31] Luquet MP, Pourplanche C, Podevin M, *et al.* A new possibility for the direct use of soybean lipoxygenase on concentrated triglycerides [J]. *Enzyme Microb Technol*, 1993, 15(10): 842–848.
- [32] Borrelli GM, De Leonardi A M, Platani C, *et al.* Distribution along durum wheat kernel of the components involved in semolina color [J]. *J Cereal Sci*, 2008, 6: 1–9.
- [33] Leenhardt, F. Lyana, B. Rocka, E. *et al.* Genetic variability of carotenoid concentration, and lipoxygenase and peroxidase activities among cultivated wheat species and bread wheat varieties [J]. *Agronomy*, 2006, 25: 170–176.
- [34] Trufanov VA, Permyakova MD, Pshenichnikova TA, *et al.* The effect of inter-cultivar substitution of wheat. *Triticum aestivum* L. chromosomes on lipoxygenase activity and its correlation with the technological properties of flour [J]. *Appl Biochem Micro*, 2007, 43: 91–97.
- [35] 郑文寅, 姚大年, 张文明. 脂肪氧化酶及其在小麦品质改良中的研究与应用 [J]. *粮食与饲料工业*, 2008, (8): 5–7.
- Zheng WY, Yao DN, Zhang WM. Research and application of lipoxygenase for improvement of wheat quality [J]. *Cereal Feed*

- Ind, 2008, (8): 5-7.
- [36] 王栋, 徐岩, 章克昌, 等. 脂肪酶非水相转化失水山梨醇油酸酯[J]. 无锡轻工大学学报, 1998, 18(2): 52-54.  
Wang D, Xu Y, Zhang KC, *et al.* Lipase catalyzed synthesis of sorbitan esters in non-aqueous phase [J]. J Wuxi Univ Light Ind, 1998, 18(2): 52-54.
- [37] 徐岩, 王栋. 非水相中脂肪酶转化失水山梨醇单油酸酯反应的研究 [J]. 日用化学工业, 2001, 3: 3-5.  
Xu Y, Wang D. Lipase-catalyzed synthesis of sorbitan esters in non-aqueous phase [J]. China Surfact Det Cosmet, 2001, 3: 3-5.
- [38] 魏云潇, 叶兴乾. 果蔬采后成熟衰老酶与保护酶类系统的研究进展 [J]. 食品工业科技, 2009, (12): 427-431.  
Wei YX, Ye XQ. Advance in enzymes about senescence and antioxidant of fruit and vegetable [J]. Sci Technol Food Ind, 2009, (12): 427-431.
- [39] 杨佳敏, 谢建春, 孙保国. 以酶催化氧化油脂的方法制备香料的研究进展 [J]. 食品科技, 2006, (10): 176-180.  
Yang JM, Xie JC, Sun BG. Progresses in flavors using oil catalyzed and oxygenated by enzyme [J]. Food Sci Technol, 2006, (10): 176-180.
- [40] Finazzi AA, Veldink GA. Influence of oxygen on the fluorescence of lipoyxygenase [J]. Biochim et Biophys Acta (BBA), 1973, 326(3): 462-470.
- [41] 顾丹. 大豆脂肪氧合酶催化合成氢过氧化油脂 [D]. 江南大学, 2009.  
Gu D. Synthesis of oil hydroperoxide catalyzed by soybean lipoyxygenase [D]. Jiangnan University, 2009.
- [42] Alfonso C Raquel O, Jose MO. Purification and characterization of broad bean lipoyxygenase isoenzymes [J]. J Agr Food Chem, 2000, 48: 1070-1075.
- [43] 陈书婷, 孔祥珍, 华欲飞, 等. 大豆脂肪氧合酶分离纯化及其性质研究 [J]. 食品工业科技, 2011, (5): 176-182.  
Chen ST, Kong XZ, Hua YF, *et al.* Study on purification and some properties of soybean lipoyxygenase [J]. Sci Technol Food Ind, 2011, (5): 176-182.
- [44] 王卫东, 杨万根, 付湘晋. 白鲢鱼肌肉脂肪氧合酶的分离纯化与鉴定 [J]. 食品科学, 2010, 31(23): 157-159.  
Wang WD, Yang WG, Fu XJ. Separation, purification and identification of lipoyxygenase from silver carp muscle [J]. Food Sci Technol, 2010, 31(23): 157-159.
- [45] 曹玉敏, 曲明椿, 陈芳, 等. 高静压技术对豆浆中脂肪氧合酶的钝化效果及其动力学分析 [J]. 中国食品学报, 2012, 12(15): 111-115.  
Cao YM, Qu CM, Chen F, *et al.* Effects of high hydrostatic pressure (HHP) on the inactivation of lipoyxygenase (LOX) in soymilk [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2012, 12(15): 111-115.
- [46] 张充, 周孝伟, 吕凤霞, 等. 重组鱼腥藻脂肪氧合酶基因的克隆表达分离纯化及活性分析 [J]. 生物工程学报, 2012, 28(4): 440-456.  
Zhang C, Zhou XW, Lu FX, *et al.* Cloning and expression of lipoyxygenase gene from Anabaena sp.PCC 7120 and purification, characterization of the recombinant enzyme [J]. Chin J Biotechnol, 2012, 28(4): 440-456.
- [47] 章栋梁, 钟蔚, 张充, 等. 响应面法优化重组枯草芽孢杆菌产脂肪氧合酶条件 [J]. 核农学报, 2012, 26(2): 324-329.  
Zhang DL, Zhong W, Zhang C, *et al.* Optimization of conditions for lipoyxygenase production from recombinant Bacillus subtilis by Response surface methodology [J]. J Nucl Agr Sci, 2012, 28(4): 440-456.
- [48] 郭芳芳, 应琦, 张充, 等. 重组脂肪氧合酶基因工程菌破碎条件优化及其酶活力测定方法研究 [J]. 食品科学, 2012, 33(23): 160-165.  
Guo FF, Ying Q, Zhang C, *et al.* Optimization of conditions for disruption of recombinant E. coli cells and determination of lipoyxygenase activity [J]. Food Sci, 2012, 33(23): 160-165.
- [49] María EGL, Pedro MC, Gustavo AM. Expression of a lipoyxygenase encoding gene (BoLOX1) during postharvest senescence of broccoli [J]. Postharvest Biol Tec, 2012, 64: 146-153.
- [50] María NP, Luisa H, Carlos S, *et al.* Martínez-Rivas. molecular cloning functional characterization and transcriptional regulation of a 9-lipoyxygenase gene from olive [J]. Phytochemistry, 2012, 74: 58-68.

(责任编辑: 赵静)

## 作者简介



闫静芳, 本科, 主要研究方向为生物工程。

E-mail: 1178439969@qq.com



王昱洋, 博士, 副教授, 主要研究方向为食品功能因子及生物分离。

E-mail: joywangyu@sina.com