

# 脂氧合酶與水產風味形成之關係

蔡政融

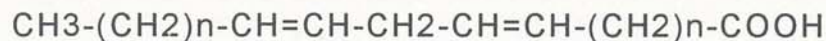
私立德育醫護管理專科學校

## 前言

生鮮魚、介類含有之揮發性化合物 hexanal、1-octen-3-ol、1.5-octadien-3-ol 以及 2.5 - octadien-1-ol，這些化合物與九碳的醇及醛類(E)-2,6-nonadienal, (E)-2-nonenal, (E,Z)-2,6-nonadienol, 3,6-nonadien-1-ol, (E)-2-nonenol and (Z)-6-nonenol 使香魚 (ayu) 及柳葉魚 (smelt) 等白肉魚含有青草味及甜瓜香味 (Hirano et al., 1992) 而這些風味可能由於魚油中高度飽和脂肪酸經 12- 及 15- 脂氧合酶作用所產生 (Zhang et al., 1992a)；脂氧合酶若被抑制，則鮮魚之揮發性 C9 之 carbonyls 和 alcohols 幾乎無法形成 (Zhang et al., 1992)。蝦血淋巴中亦發現有 12-脂氧合酶之存在 (kuo and Pan, 1992)，與脂肪酸 22:6 作用後，經微波加熱有柴魚味之形成 (郭, 1992)。柳葉魚皮 12-脂氧合酶粗酵素液與多不飽和脂肪酸反應，形成揮發性化合物，為 12-氫過氧化物之裂解產物 (Zhang et al., 1992b)。魚漿中添加脂氧合酶後使製品增加鮮魚味 (Josephson and Linday, 1986)。

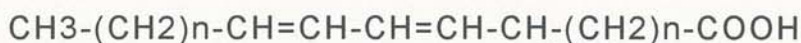
## 一、脂氧合酶之特性

脂氧合酶(oxidoreductase, EC. 1. 13. 11. 12)能催化含有 cis,cis-1,4-pentadiene 的高度不飽和脂肪酸，形成氫過氧化物 (hydroperoxide) 的酵素 (Rackis et al., 1975；Wolf., 1975)。



*cis,cis-1,4-penta`diene* 脂肪酸

脂氧合酶 ↓ +O<sub>2</sub>



氫過氧化物

## (一) 脂氧合酶之分佈

於大豆(Theorell et al., 1947)、豌豆(Knapp., 1964; Aren et al., 1974; Chen and Whitaker, 1986)、扁豆(Alobaidy and Siddiqi, 1981)、稻米(Yamamoto et al., 1980)、大麥(Yabuuchi., 1976)、小麥(Wallace and wheeler., 1975)、玉米(Gardener., 1970)、茶葉(Sekiya et al., 1984)、蕃茄(Gallard and Mathew., 1977)、黃瓜(Phillips and Galliard., 1978)等植物之組織中發現脂氧合酶。動物之脂氧合酶則僅存在於特殊組織中，例如人類的血小板(platelet) (Wallach and Brown, 1981)、嗜中性白血球(neutrophil)、淋巴細胞(lymphocyte)等，豬或天竺鼠之白血球(leukocyte) (Spector et al., 1988)，兔子的網狀血球(reticulocyte)，白鼠的肺臟(Goetzl., 1980)，因此動物脂氧合酶似乎都存在於富含血液之組織中。

水產動物之脂氧合酶活性於烏魚血液、卵及鰓部(陳, 1993)、鱒魚皮及鰓部(German and Kinsella, 1985; Hsieh and Kinsella, 1986)、魚肉(Wang et al., 1991)、海星(Meijer et al., 1986)及海膽的卵(Hawkins and Brash, 1987)發現其活性。甲殼類中斑節蝦血亦發現脂氧合酶活性(kuo and Pan., 1992)。一般魚類鰓中脂氧合酶活性較其血液及魚皮高，但隨魚種之不同而有差異(German and Kinsella, 1985);如烏魚鰓12-脂氧合酶活性為血液的12倍(蔡, 1994)。

## (二) 異構酶(isozyme)之存在

動物組織之脂氧合酶根據其氧化20:4(arachidonic acid)之位置而命名，主要有三種異構酶5-、12-及15-脂氧合酶，豬的白血球及天竺鼠的嗜中性白血球中，主要為5-脂氧合酶。人類血小板、豬的嗜中性白血球及白鼠肺臟中主要為12-脂氧合酶，兔子的網狀血球中主要為15-脂氧合酶。白鼠之嗜鹼性白血球中有5-及12-脂氧合酶，人類之嗜中性白血球中有5-及15-脂氧合酶(Spector et al., 1988)。

水產動物中斑節蝦血淋巴主要為12-脂氧合酶(Kuo and Pan, 1991)，鱒魚鰓主要亦為12-脂氧合酶(Hsieh et al., 1988a)。烏魚鰓中發現有5-、12-及15-三種脂氧合酶，以12-脂氧合酶為主(蔡, 1994)。鯊魚鰓則15-脂氧合酶活性高於12-脂氧合酶(German et al., 1991)。海星卵及海膽卵中的脂氧合酶較為特殊，分別為8(R)- (Meijer et al., 1986)以及11(R)-與12(R)-脂氧合酶(Hawkins and Brasn, 1986)。

### (三) 基質特異性 ( substrate specificity )

脂氧合酶之基質乃含有 cis,cis-1,4-pentadiene 系的直鏈脂肪酸、酯類或醇類。常見之基質為亞麻油酸 ( linoleic acid, 18:2 )、次亞麻油酸 ( linolenic acid, 18:3 )、花生四烯酸 ( arachidonic acid, 20:4 )、EPA ( eicosapentaenoic acid, 20:5 )、DHA ( docosahexenoic acid, 22:6 ) 等雙鍵位置在  $\omega 6$  及  $\omega 9$  的脂肪酸 ( Holman et al., 1969 )。

水產動物中,鱒魚鰓及香魚皮中 12-脂氧合酶對花生四烯酸、EPA、DHA 之反應相似,對亞麻油酸反應性較小 ( Hsieh, 1988a )。烏魚血小板中 12-脂氧合酶對 EPA 反應性最高,其次為 DHA 及花生四烯酸,對次亞麻油酸反應性低 ( 陳, 1993 )。在斑節蝦血液中 12-脂氧合酶對 DHA 反應性最高,其次為 EPA,花生四烯酸及次亞麻油酸;亞麻油酸反應最低 ( Kuo and Pan, 1992 )。

### (四) 生理功能

在動物中脂氧合酶大都存在於富含血液之組織中,如血小板、白血球、網狀血球、淋巴細胞等 ( Wallach and Brown, 1981; Rapoport et al., 1979; Spector et al., 1988 )。在水產動物中,鱒魚、鮭魚、鯊魚、鮫魚及烏魚等魚類的鰓 ( German and Kinsella, 1985; Hsieh and Kisella, 1986; 蔡, 1994 ) 亦發現脂氧合酶的活性,推測脂氧合酶存在血液而循環到各組織中。在水產動物中僅於斑節蝦血中 ( Kuo and Pan, 1992 ), 及烏魚血中 ( 陳, 1993 ) 發現脂氧合酶。脂氧合酶之作用產物亦具有調節免疫系統 ( immune system ) 細胞移動性、趨化性 ( chemotactic )、細胞絲狀分裂 ( mitogenesis ) 及細胞增殖 ( proliferation ) 及合成、氧化低密度脂蛋白等生理功能 ( Honda et al., 1991 )。

12-脂氧合酶之作用產物氫氧化物 12-HETE, 會使多核性白血球 ( polymorphonuclear leukocytes )、嗜中性白血球、嗜鹼性白血球細胞移動及會使巨噬細胞 ( macrophages ) 附著於腎血球 ( glomerulus ) 表面而併入血球中。所以 12-HETE 可併入細胞膜中磷脂質而改變細胞膜之性質及功能使細胞具有趨化性、移動性 ( Spector et al., 1988 )。12-HPETE 會抑制 cyclooxygenase, 而減少 prostaglandin 及 thromboxane 之形成, 因而抑制血小板凝集, 而且減少動脈硬化 ( atherosclerosis ) 之形成 ( Clouet et al., 1991; Powell and Funk, 1987 )。12-HPETE 抑制血小板凝集作用, 亦會調節血小板之分泌, 及抑制 phospholipase A2 ( Aharony et al., 1982; Siegel et al., 1979 )。所以血小板中脂氧合酶對花生四烯酸之代謝具有調節作用; 烏魚攝食 Vit E, 烏魚血小板之 12-脂氧合酶活性被抑制及終止

氫過氧化物生成之作用，使血球細胞膜之高度不飽和脂肪酸不易氧化，而紅血球之可變形度增加，以維持血液正常功能(陳，1993)，故推測脂氧合酶催化多不飽和脂肪酸之氧化作用，與血球膜安定性及血液之流變性有關。

在鱒魚鰓花生四烯酸代謝過程中發現脂氧合酶可調控 PGE<sub>2</sub> 之生，而 PGE<sub>2</sub> 可影響離子平衡及激乳素(prolactin)的利用率進而影響鰓中的滲透壓(Beckman et al., 1992)；在食品中，黃豆脂氧合酶之作用產物，可進入麵糰中穀蛋白(gluten)之非水溶液區，將 -SH 基氧化，使水易進入蛋白質構造中，而改變麵糰之流變性(Hoseney et al., 1980)。

## 二、水產風味物質之形成

### (一) 脂質自氧化作用生成之風味風味物質之形成

水產品之脂質自氧化後形成耗味(stale)，及冷藏或冰箱味 ( cold-stored )。4Z- heptenal ( Hardy et al., 1979)、(E, Z)-2,4-decadienal ( Josephson and Lindsay, 1987 ) 及 2, 4, 7- decatrienal ( Meijboom and Stroink, 1972 ) 可能為魚腥味的重要物質。4Z-heptenal 具有耗味及焦味，如冷藏鱒魚味即是一例 ( Lindsay, 1990 )。2,4-decadienal 有油味或油炸(fried)味及青草味，由 retro-aldol 縮合作用裂解為 2-octenal，最後並形成 hexanal 及 acetaldehyde ( Josephson and Lindsay, 1987 )。

### (二) 脂氧合酶之酵素性氧化生成之風味

#### 1. 醇類及 carbonyls 之形成途徑

揮發性化合物 hexanal、1-octen-3-ol、1,5-octanediol 以及 2,5-octadien-1-ol 存在於生鮮魚肉中，乃經酵素催化作用產生(Joesphson et al., 1984)；這些化合物與九個碳的醇類及醛類：2E-nonenal、2E,6Z-nonenal、3,6-nonadienal、6-nonen-1-ol、2,6-nonadien-1-ol 使得香魚(ayu)及柳葉魚(smelt)及一些白色肉魚的風味具有類似甜瓜(melon) 般的香氣(Hirano et al, 1992 and Joesphson et al., 1987)，魚肉中含之多量不飽和脂肪酸比例不一樣，揮發性化合物之產生也會有所不同。

生鮮魚味之產生可能由魚肉中的高度不飽和脂肪酸經12-脂氧合酶、15-脂氧合酶及hydroperoxide lyase作用產生5、6、8或9個碳的醇類或醛類(Josephson et., 1984, Lindsay, 1990)。脂氧合酶若被抑制，則鮮魚味揮發性之carbonyl 及 alcohol 幾乎無法形成 ( Josepson et al.,

1984)。利用模式反應亦證明，鱒魚鰓中揮發性化合物，1-octen-3-ol、2-octenal 及 2-nonenal，為脂氧合酶催化花生四烯酸所產生之過氧化物的裂解產物；2,5-octadien-3-ol 及 2,5-octadien-1-ol 為催化 20:5(EPA) 所產生 (Hsieh and Kinsella, 1989)。以抑制 12-脂氧合酶活性，則這些揮發性化合物產量皆減少 (German et al., 1991)。故生鮮魚類之香氣成分可經由 12-脂氧合酶之作用產生，其生合成機制如 Josephson 等 (1984) 及 Josephson and Lindsay (1986), Lindsay (1990), Hsieh and Kinsella (1989) 所提出。甲殼類亦有經酵素性脂質氧化所產生的醇類及 carbonyl，且僅存於生鮮甲殼類中 (Kuo and Pan, 1991)。因此甲殼類中經 12-脂氧合酶之作用形成醇類及 carbonyls 的途徑可能與魚類相似，而脂氧合酶對蝦風味之形成極為重要。

## 2. 生鮮蝦香氣

生鮮蝦之香氣化合物含 1-octen-3-ol (Kuo and Pan, 1992)，此化合物具有洋菇味 (Josephson et al., 1984)，其可能為蝦血催化花生四烯酸 (20:4) 產生之 12-HPETE 斷裂後形成 (Kuo and Pan, 1992)。

## 3. 熟蝦香氣

烏魚鰓粗酵素液與市售魚油反應後，添加胺基酸經熱反應，會產生類似烤魚及烤蝦香味 (蔡, 1994)。添加純黃豆脂氧合酶後熟蝦香氣含量增加，抑制蝦中 12-脂氧合酶後熟蝦香氣含量減少，減少之揮發性化合物以 1-octen-3-ol、5E,8Z,11Z-tetradecatrien-2-one、thiazole、thiophene、pyridine 為主 (Kuo and Pan, 1992)。其中 1-octen-3-ol 具洋菇味 (Josephson et al., 1984a)，5E,8Z,11Z-tetradecatrien-2-one 具蝦蟹味 (Kuo and Pan, 1992)，均直接來自脂質。其他如 thiazole、thiophene、pyridine 等化合物可能係來自脂氧合酶作用之二次產物，其味道有核果、爆玉米花、綠色植物味等 (Josephson et al., 1984)。脂氧合酶確有改變香氣成分而有改善熟蝦味之作用 (Kuo and Pan, 1992)。

## 參考文獻

郭建民，1992. 蝦脂氧合酶之存在及對蝦香氣形成之影響。國立台灣海洋大學水產食品科學研究所博士論文。

陳素鳳，1993. 攝食維生素 E 及魚油對養殖烏魚血液脂氧合酶特性及血液黏度的影響。國立台灣海洋大學水產食品科學研究所碩士論文。

蔡政融，1994. 烏魚鰓中脂氧合酶之特性與水產風味形成之關係。國立台灣海洋大學水產食品科學研究所碩士論文。

Aharony, D., Smith, J.B. and Silver, M.J. 1982. Regulation of arachidonate induced platelet aggregation by the Lipoxygenase product, 12-hydroperoxyeicosatetraenoic acid. *Biochim. Biophys. Acta.* 718:193.

Alobaidy, H.M. and Siddiqi, A.M. 1981. Properties of broad bean lipoxygenase , *J. Food Sci.*, 46: 622-625.

Arens, D., Sulmeie, W., Webeer, F., Kloos, G. and Grosch, W. 1974. Purification and properties of a carotene cooxidizing lipoxygenase from peas, *Biochim. Biophys. Acta.* 327: 295-299.

Beckman, B. and Mustafa, T. 1992. Arachidonic acid metabolism in gill homogenate and isolated gill cells from rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*: the effect of osmolality, electrolytes and prolactin. *Fish Physiol. Biochem.* 10(3):213-222.

Chen, A.O. and Whitaker, J.R. 1986. Purification and characterization of a Lipoxygenase from immature English peas. *J. Agric. Food Chem.*, 34: 203-211.

Clouet, P., Bouchard, I.N., Gree, R., Lellouche, J.P., Beaucourt, J.P. and Lagarde, M. 1991. Distribution of tritium labeled 12(s)-hydroxyeicosatetraenoic acid 12-HETE in the rat. *Prostaglandins.* 42:39.

Galliard, T. and Matthew, J.A. 1977. Lipoxygenase-mediated cleavage of fatty acids to carbonyl fragments in tomato fruits, *Phytochemistry*, 16: 339-343.

Gardener, H.W. 1970. Sequential enzyme of linoleic acid oxidation in corn germ lipoxygenase and linoleate hydroperoxide isomerase. *J. Lipid Res.* 11: 311-320.

German, J.B. and Kinsella, J.E. 1985. Lipid oxidation in fish tissue. enzymatic initiation via lipoxygenase. *Am. Chem. Soc* 33: 680-683.

German, J.B., Berger, R.G. and Drawert, F. 1991. Generation of fresh fish flavor: rainbow trout (*salmo gairdneri*) gill homogenate as a model system. *Chem. Microbial. Technol. Lebensm.* 13: 19-24.

Goetzl, E.J. 1980. Vitamin E modulates the lipoxygenation of arachidonic acid in leucocytes. *Nature(London)*,288:183-189.

Hardy, R., McGill, A.S. and Gunstone, F.D., 1979. Lipid and autoxidative changes in cold stored cod (*Gadus morhus*). *J. Sci. Food Agric.* 30: 999-1006.

Hawkins, D.J. and Brash, A.R. 1987. Eggs of the sea urchin, *strongylocentrotus purpuratus*, contain a prominent(11R) and (12R) lipoxygenase activity. *J. Biol. Chem.* 262(16): 7629-7634.

Hirano, T., Zhang, C.H., Morishita, A., Suzuki, T. and Shirai, T. 1992. Identification of volatile compounds in ayu fish and its feeds. *Nippon Suisan Gakkaishi* 58(3): 547-557.

Holman, R.T., Egwin, P.O. and Christie, W.W., 1969. Substrate specificity of soybean lipoxidase. *J. Biol. Chem.* 244(5): 1149-1151.

Honda, I., Noguchi, M., Furuno, M., Matsumoto, T., Shibagaki, M., Noma, M., Yoneyama, K. 1991. Inhibition of human 5-lipoxygenase by 3-nitro-2,4,6-trihydroxybenzamide derivatives. *Agric. Biol. Chem.* 55:833-837.

Hoseney, R.C., Rao, H., Faubion, J. and Sidhu, J.S. 1980. Mixograph studies IV. The mechanism by which lipoxygenase increase mixing tolerance. *Cereal Chem.* 57:163-166.

Hsieh, R.J. and Kinsella, J.E. 1986. Lipoxygenase catalyzed oxidation of N-6 and N-3 polyunsaturated fatty acids: relevance to and activity in fish tissue. *J. Food Sci.* 51 (4): 940-945.

Hsieh, R.J. and Kinsella, J.E. 1989. Lipoxygenase generation of specific volatile flavor carbonyl compounds in fish tissues. *J. Agric. Food Chem.* 37(2): 280-286.

Hsieh, R.J., German, J.B. and Kinsella, J.E. 1988a. Lipoxygenase in fish tissue: some properties of the 12-lipoxygenase from trout gill. *J. Agric. Food Chem.* 36:680-685.

Hsieh, R.J., German, J.B. and Kinsella, J.E. 1988b. Relative inhibitory potencies of flavonoids on 12-lipoxygenase of fish gill. *Lipids* 23: 322-326.

Josephson, D.B., Lindsay, R.C. and Stuibler, D.A. 1984. Variations in the occurrences of enzymically derived volatile aroma compounds in salt- and fresh-water fish. *J. Agric. Food Chem.*, 32: 1344-1347.

Josephson, D.B. and Lindsay, 1986. Biogeneration of aromas. ed. T.H. Parliment and R. Croteau, American Chem. Soc., Washington, D.C., pp. 201-221.

Josephson, D.B., Lindsay, R.C. and Stuibler, D.A. 1987. Enzymatic hydroperoxide initiated effects in fresh fish. *J. Food Sci.* 52(3): 596-599.

Knapp, F.W., 1964. Southern pea Lipoxidase, *Proc. Fla. State Hortic. Soc.* 77: 262-255.

Kuo, J.M. and Pan, B.S. 1991. Effects of lipoxygenase on formation of the cooked shrimp flavor compound-5,8,11 -tetradecatrien-2-one. *Agric. Biol. Chem.* 55(3): 847-848.

Kuo, J.M. and Pan, B.S. 1992. Occurrence of properties of 12-lipoxygenase in the hemolymph of shrimp (*Penaeus japonicus* Bate). *J. Chinese Bio. Soc.* 21(1): 9-14.

Lindsay, R.C. 1990. Fish Flavors. *Food Review International* 6(4):437-455.

Meijboom, P.W. and Stroink, J.H.A., 1972. 2-Trans,4-cis, 7-isodecatrienal, the fishy off-flavor occurring in strongly autoxidized oils containing linolenic acid or w-3,6,9, etc., fatty acid. *JAOCS* 49: 555-558.

Mitsuda, H., Yasumoto, K., Yamamoto, A., and Kusano, T., 1967. Study of soybean lipoxygenase I. Preparation of crystalline enzyme and assay by polarographic method. *Agric. Biol. Chem.* 31: 115-118.

Phillips, D.R., and Galliard, T., 1978. Flavour biogenesis: Partial purification and properties of a fatty and hydroperoxide cleaving enzyme from fruits of cucumber. 17: 355-258.

Rapoport, S.M., Schewe, T., Wiesner, R., Halangk, W., Ludwig, P., Hohne, M.J., Tannert, C., Hiebsch, C. and Klatt, D. 1979. Purification, characterization and



biological dynamics of the lipoxygenase: its identity with the respiratory inhibitors of the reticulocyte. *Eur. J. Biochem.* 96: 545-561.

Sekiya, J., Kajiwarra, T. and Hatanaka, A., 1984. Seasonal changes in formation of C6-aldehydes and C6-alcohols in tea leaves and the effects of environmental temperatures on the enzyme activities, *Plant Cell Physiol.*, 25(2): 269-280.

Siganl, E. 1991. The molecular biology of mammalian arachidonic acid metabolism. *Am. Physil. Soc.* 128:13-17.

Spector, A.A., Gordon, J.A. and Moore, S.A., 1988. Hydroxyeicosatetraenoioc acid (HETES). *Prog. Lipid Res.* 27: 271-323.

Theorell, H., Holman, R.T. and Akeson, A., 1947. Crystalline soybean Lipoxidase. *Arch. Biochem.* 14:250-256.

Wallace, J.M. and Wheeler, E.L., 1975. Lipoxygenase from wheat an examination of its reaction characteristics. *J. Agric. Food Chem.* 23: 146-149.

Wallach, D.P. and Brown, V.R. 1981. A novel preparation of human platelet lipoxygenase. *Biochim. Biophys. Acta* 663:361-372.

Wang, Y.J., Miller, L.A. and Addis, P.B. 1991. Effect of heat inactivation of lipoxygenase on lipid oxidation in lake herring (*Coregonus artedii*). *JAOCS.* 68(10): 752-757.

Wolf, W.J., 1975. Lipoxygenase and flavor of soybean products. *J. Agric. Food Chem.* 23(2): 136-140.

Yabuuchi, S. 1976. Occurrence of a new lipoxygenase isoenzyme in germinating barley embryos. *Agri. Biol. Chem.* 40(10): 1987-1992.

Yamamoto, S. and Ishimura, Y. 1991. Dioxygenases and monooxygenases. "A Study of Enzymes" ed. by Kuby, S.A. CRC press, Inc, USA, pp.313.

Zhang, C.H., Hirano, T., Suzuki, T. and Shirai, T. 1992a. Enzymatically generated specific volatile compounds in ayu tissues. *Nippon Suisan Gakkaishi* 58(3): 559-564.

Zhang, C.H., Shirai, T., Suzuki, T. and Hirano, T. 1992b. Lipoxygenase-like activity and formation of characteristic aroma compounds from wild and cultured ayu. *Nippon Suisan Gakkaishi* 58(5): 959-964.