

Lipazy — narzędzie w biotechnologii tłuszczów i olejów

Marek Adamczak

Włodzimierz Bednarski

Instytut Biotechnologii Żywności

Akademia Rolniczo-Techniczna

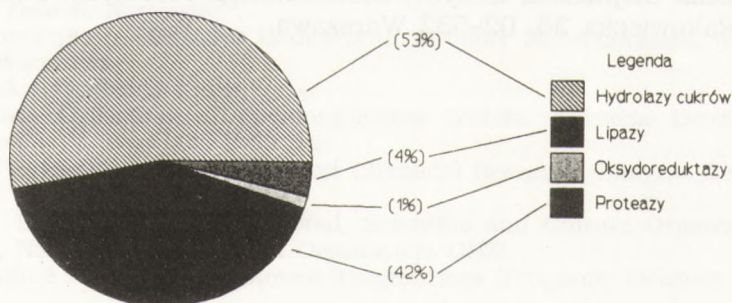
Olsztyn

1. Wprowadzenie

Zalety stosowania enzymów jako katalizatorów reakcji chemicznych znane są już od dawna. Ich przemysłowe wykorzystanie staje się coraz bardziej powszechne. Według raportu Food Industry Enzymes Market, wartość wykorzystywanych w 1993 r. w przemyśle spożywczym USA enzymów osiągnęła 286 milionów dolarów (1). Główne kierunki wykorzystania enzymów przedstawiono na rys. 1.

Enzymy lipolityczne odgrywają bardzo ważną rolę w przemianach lipidów wszystkich żywych organizmów. To one umożliwiają obieg lipidów od jednego organizmu do drugiego, a także ich przemiany w organizmie (2). Oprócz znaczącej roli jaką pełnią w przemyśle spożywczym, spełniają wyjątkowo ważne funkcje w przemyśle chemicznym, analitycznej i preparatywnej chemii i biochemii oraz w medycynie.

Spośród dużej grupy enzymów lipolitycznych (tab. 1), z których wszystkie należą do grupy hydrolaz serynowych, na większą skalę stosowane są jedynie



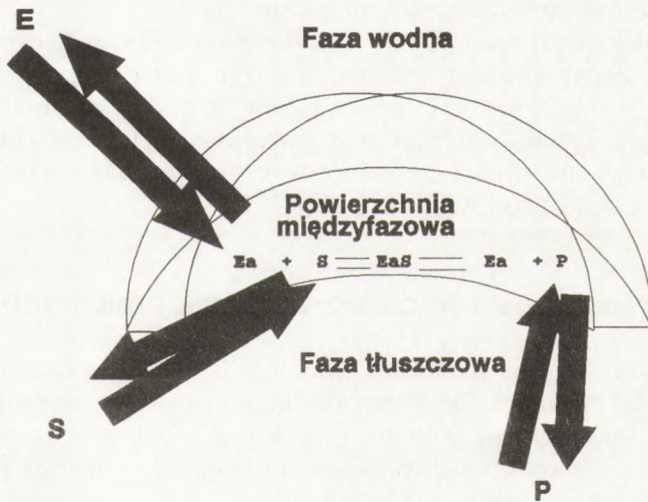
Rys. 1. Wykorzystanie enzymów w przemyśle spożywczym (1).

lipazy (EC 3.1.1.3), a w dużo mniejszych ilościach fosfolipazy, wśród nich fosfolipazy A i D (3,4).

Pod potocznym określeniem „lipazy” rozumie się hydrolazy acyloglicerolowe (HAG). Cechą charakterystyczną lipaz, różniącą je od innych enzymów, jest działanie na substraty nierozpuszczalne w wodzie. To decyduje o przebiegu reakcji na powierzchni pomiędzy fazą substratu (nierozpuszczalną w wodzie) i fazą wodną, w której rozpuszczony jest enzym (rys. 2) (5,6,7).

TABELA 1
ENZYMY LIPOLITYCZNE

Numer systematyczny	Nazwa systematyczna	Potoczna nazwa
3.1.1.3	Triacyloglicerol hydrolaza	Lipaza
3.1.1.13	Hydrolaza estrów steroli	Cholesteroloesteraza
3.1.1.4	Fosfatydylo-2-acylohydrolaza Fosfatydylo-1-acylohydrolaza	Fosfolipaza 2 (Fosfolipaza A2) Fosfolipaza 1 (Fosfolipaza A1)
3.1.1.5	Lizolecyto-acylohydrolaza	Lizofosfolipaza
3.1.3.4	Fosfatydylo-fosfohydrolaza	Fosforanofosfataza
3.1.4.3	Fosfatydylocholino-cholinofosfohydrolaza	Fosfolipaza 3 (Fosfolipaza C)
3.1.4.-	Sfingomielino-N-acylosfingozylohydrolaza	Sfingomielinaza
3.1.4.4	Fosfatydylocholino-fosfohydrolaza	Fosfolipaza 4 (Fosfolipaza D)
3.1.5.-	N-acylosfingozylo-acylohydrolaza	Ceramidaza



Rys. 2. Schemat działania HAG na powierzchni międzyfazowej (E-enzym, EA-enzym zaadsor-

Brockerhoff i Jensen (2) określają HAG jako hydrolazy estrów glicerolu i długołańcuchowych kwasów tłuszczowych. Pod pojęciem długołańcuchowych kwasów tłuszczowych rozumieją oni te, które posiadają przynajmniej 12 atomów węgla. Najbardziej uniwersalnym substratem dla określania aktywności lipaz jest 1,2,3-trioleilo-sn-glicerol bądź olej z oliwek. Dobór odpowiedniego substratu i warunków określania aktywności lipolitycznej jest bardzo ważny, ponieważ pozwala to na odróżnienie lipaz od pokrewnych esteraz, które wykazują minimalną aktywność w stosunku do lipidów. Borgström i Brockman (7) twierdzą, że czynnikiem zdecydowanie różniącym lipazy od esteraz nie jest substrat, a przebieg katalizy na powierzchni międzyfazowej. Popierają to następującym przykładem: w roztworze wodnym hydroliza 1,2,3-tripalmitoilo-sn-glicerolu katalizowana przez lipazę trzustkową przebiega bardzo powoli. Ta sama hydroliza w obecności hydrofobowego czynnika przebiega znacznie szybciej.

Biologiczną funkcją HAG jest katalizowanie hydrolizy acylogliceroli do kwasów tłuszczowych, diacylogliceroli, monoacylogliceroli i glicerolu. Reakcja ta jest odwracalna, ponieważ różnica w zmianach energii swobodnej związana z kierunkiem reakcji hydroliza — synteza dla lipaz nie jest duża. Zmieniając środowisko reakcji można tak nią pokierować, aby przebiegała w kierunku syntezy; grupy acylowe z cząsteczki donora przenoszone są wówczas na akceptory inne niż woda (8). Pod pojęciem zmiany środowiska reakcji rozumie się obniżenie zawartości wody w układzie.

Hydrolazy acyloglicerolowe są produkowane przez rośliny, zwierzęta i mikroorganizmy (9). Lipazy roślinne nie mają przemysłowego zastosowania w odróżnieniu od lipaz pochodzenia zwierzęcego i mikrobiologicznego.

Znaczący rozwój biotechnologii tłuszczów, wyraża się ogromnym zainteresowaniem HAG, w tym przede wszystkim pochodzenia mikrobiologicznego. Bogactwo świata mikroorganizmów koncentruje ogromną liczbę badań nad poznaniem nowych syntetyzowanych przez nie HAG.

Lipazy mikrobiologiczne cechuje w zależności od rodzaju (gatunku) mikroorganizmów oraz warunków ich hodowli (źródła azotu, napowietrzania, pH podłoża, temperatury hodowli, obecności lipidów w podłożu i innych) ogromna różnorodność. Dotyczy ona optymalnych warunków działania HAG, ich specyficzności, a także możliwości aktywności w środowisku rozpuszczalników organicznych oraz mikrowodnym (10 – 15).

2. Struktura i właściwości hydrolaz acyloglicerolowych

Generalnie lipazy są kompleksami glikoprotein o masie cząsteczkowej od 20 000 do 60 000 daltonów. Oczyszczone lipazy zawierają w swoim składzie od 2 do 15% węglowodanów, głównie mannozy (5,6,9). Uważa się, że część cukrowa cząsteczki lipazy umożliwia łagodną migrację enzymu przez ścianę komórkową mikroorganizmów do pożywki (9).

Węglowodany łączą się z cząsteczką lipazy, lecz nie z jej centrum aktywnym. Hedrich i współ. (16) wykazują, np. zwiększenie aktywności lipazy *Ga-*

lactomyces geotrichum GC-4 (dawniej *Geotrichum candidum*) po jej poddaniu hydrolizie endoglukozydazą H. Częściowe usunięcie węglowodanów z lipazy produkowanej przez *Aspergillus* sp., zawierającej 12 cząsteczek mannozy, 2 galaktozy i 2 N-acyloglukoaminy, nie miało natomiast wpływu na jej aktywność (17).

Budzącym wiele kontrowersji problemem jest kwestia heterogenności HAG. Występowanie izoform lipaz związane jest z trzema przypadkami. Po pierwsze, przypuszcza się, że w genomie mikroorganizmów zapisana jest informacja o możliwości syntezy różnych lipaz. Shimada i współ. (18) znaleźli w genomie *Galactomyces geotrichum* ATCC 34316 dwa różne geny kodujące syntezę izo-lipaz, a Sugihara i współ. (19) wyizolowali te enzymy. Heterogenność tak syntetyzowanych HAG polegała na różnicach w składzie aminokwasowym (20). O różnicach tej natury dotyczących lipaz *Staphylococcus aureus* donoszą Rollof i współ. (21).

Powiązanie lipaz z węglowodanami jest podawane jako druga przyczyna heterogeniczności wśród lipaz (22,23,24). Do niedawna jeszcze, jako jedyną przyczynę pojawienia się w hodowli danego mikroorganizmu więcej niż jednej formy molekularnej lipazy, uważano ich degradację przez proteazy (6). Wydaje się to jednak mało prawdopodobne. Baillargeon i współ. (22) stwierdzili bowiem występowanie w płynie po hodowli *Galactomyces geotrichum* NRRL Y-553 lipaz różniących się masą cząsteczkową, ale nie stwierdzili w tej próbie aktywności proteolitycznej. Ponadto nie do końca jest wyjaśniona rola jaką pełnią węglowodany w cząsteczkach HAG, ale przypisuje się im także działanie ochronne przeciw działaniu proteaz (6).

Warunki środowiska odgrywają także dużą rolę, jako źródło zmienności lipaz. Specyficzność nieoczyszczonego preparatu zewnątrzkomórkowej lipazy *Galactomyces geotrichum* ATCC 66592 wykazywała dużą zależność od składu pożywki (23). Zmiany specyficzności lipazy *Galactomyces geotrichum* z hodowli w różnych pożywkach korelowały z występowaniem różnych izoenzymów. Zmienność właściwości lipaz obserwowana jest również u danego gatunku drobnoustrojów nawet w tych samych warunkach ich hodowli. O takiej różnorodności lipaz wśród szczepów gatunku *Galactomyces geotrichum* donosi Sonnet (25).

Inna jeszcze przyczyna heterogeniczności lipaz pojawia się u *Rhizomucor miehei* (dawniej *Mucor miehei*). Wiadomo bowiem, że gatunek ten syntetyzuje lipazę w postaci prekursora i wg Boela i współ. (26) jest to źródło dużej jej zmienności, szczególnie na etapie transferu genów.

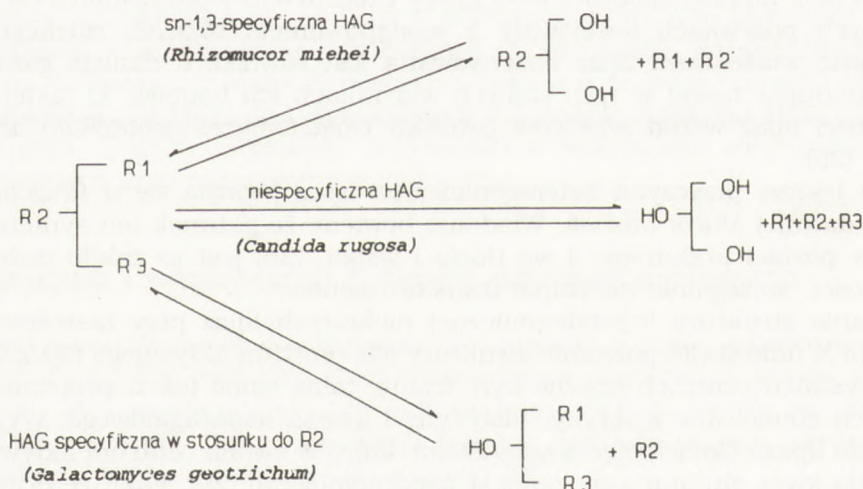
Badania struktury krystalograficznej niektórych lipaz przy zastosowaniu promieni X umożliwiło poznanie struktury ich centrum aktywnego (20,27,28). We wszystkich centrach obecne były triady, takie same jak u proteinaz serynowych zbudowane z seryny, histydyny i kwasu asparaginowego. Wyjątek stanowiła lipaza *Galactomyces geotrichum*, która w swoim centrum aktywnym posiadała kwas glutaminowy zamiast asparaginowego (29). Fakt, że centrum aktywne lipaz ma taki sam charakter jak proteinaz serynowych sugeruje podobny mechanizm katalizy prowadzonej przez te enzymy.

Do niedawna lipazy były uważane za enzymy wyjątkowo hydrofobowe, ze względu na ich oddziaływanie z niepolarnymi substratami. Poznanie ich składu aminokwasowego wykazało, że są to enzymy nie bardziej hydrofobowe niż inne. Do oddziaływania z nierozpuszczalnymi w wodzie substratami dochodzi prawdopodobnie dzięki istnieniu „hydrofobowych miejsc” w cząsteczce lipazy (5,6). Według Tombsa (6) oraz Macrae i Hammonda (5) fragmenty białek enzymatycznych wykazujących właściwości hydrofobowe zdolne są w roztworze wodnym do tworzenia dimerów. Tworzenie dimerów cząstek lipaz utrudniało dokładne poznanie ich struktury i właściwości.

Jedyną skuteczną metodą poznania struktury HAG, jak i innych enzymów, mechanizmów interakcji enzym-substrat, enzym-inhibitor itp., są metody rentgenograficzne.

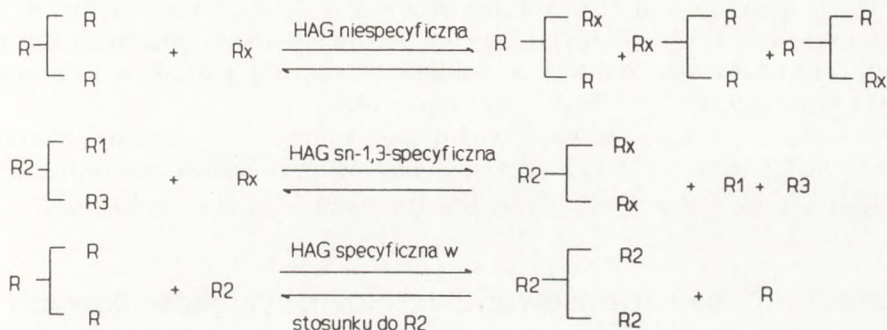
3. Specyficzność i warunki działania hydrolaz acyloglicerolowych

Specyficzność lipaz jest czynnikiem decydującym o ich przemysłowym i analitycznym zastosowaniu. Lipazy dzielą się na trzy grupy. W podziale bierze się pod uwagę ich specyficzność substratową i regionalną (rys. 3, 4). Do pierwszej grupy zalicza się te, które wykazują szeroką specyficzność, tj. działają na wszystkie wiązania estrowe w cząsteczce triacyloglicerolu. Tak działają np. lipazy ze *Staphylococcus aureus* i *Candida rugosa* (5,6). Lipazy posiadające specyficzność w stosunku do 1,3-sn-pozycji w triacyloglicerolach stanowią drugą grupę. Należą do nich m.in. lipazy produkowane przez grzyby strzępkowe z rodzaju *Mucor* i *Aspergillus* (5,30,31). Spośród drożdży do tej



Rys. 3. Specyficzność HAG w katalizie reakcji hydrolizy i estryfikacji (R1, R2, R3 — kwasy tłuszczowe).

klasy należą lipazy syntetyzowane przez *Candida lipolytica* i *Candida deformance* (32). Lipaza syntetyzowana przez *Galactomyces geotrichum* jest przykładem trzeciej grupy acylohydrolaz glicerolowych, charakteryzujących się specyficnością substratową w stosunku do kwasów tłuszczowych C:18 z cis-9 podwójnym wiązaniem, występujących w pozycji 2 (5,33). Znane są również formy lipaz, syntetyzowane przez *Galactomyces geotrichum*, wykazujące inną specyficność.



Rys. 4. Specyficność HAG w katalizie reakcji transestryfikacji (R1, R2, R3, Rx — kwasy tłuszczowe).

Podczas określania specyficzności lipaz należy bardzo zadbać o zapewnienie odpowiednich warunków oznaczenia. Ocena musi wynikać jedynie z obserwacji zmian w strukturze triacylogliceroli, będących efektem działania enzymu. Często w tych badaniach stosuje się monokwasowe triacyloglicerole, jednak interpretacja uzyskanych wyników jest trudna. Spowodowane jest to problemem reprezentatywności substratu dla określania specyficzności (stereospecyficzności) HAG, jak również możliwością migracji grup acylowych w cząsteczce estru.

Do określania specyficzności lipaz wykorzystuje się z powodzeniem metody radiochemiczne (35). Sonnet i współ. (25, 35) donoszą o zastosowaniu innych niż triacyloglicerole substratów do określania specyficzności lipaz, eliminując w ten sposób niedogodności wynikające ze stosowania triacylogliceroli.

Hydrolazy acyloglicerolowe są aktywne w szerokim zakresie pH i temperatury, przy czym najwyższa aktywność lipaz mikrobiologicznych przypada na pH 8 do 9 i temp. 30 – 40°C (5). Lipazy *Aspergillus niger*, *Rhizopus japonicus* i *Chromobacterium viscosum* są stabilne w temp. 50°C przez 20 min (36). Termostabilna lipaza produkowana przez *Humicola lanuginosa* zachowuje 80% swojej maksymalnej aktywności w 60°C, przez 30 min i 25% w 100°C, przez 10 min (37, 38). Zaks i współ. (39) donoszą o katalizie prowadzonej przez lipazę trzustkową w rozpuszczalniku organicznym w temp. 100°C. Watanabe i współ. (40) wyizolowali lipazę *Pseudomonas nitroreducans* aktywną w środowisku o pH 11.

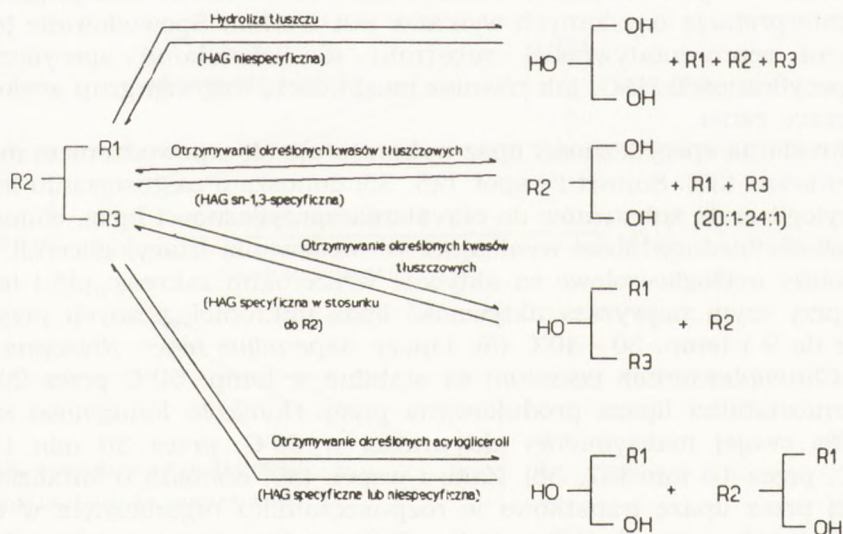
Czynnikiem stymulującym aktywność lipaz są sole kwasów żółciowych, ale tylko w niewielkich stężeniach. Przyjmuje się, że jony Ca^{2+} działają stymulująco na aktywność lipaz mikrobiologicznych. Jacobsen i współ. (33,41) tłumaczą korzystny wpływ jonów Ca^{2+} , ich interakcją z wolnymi kwasami tłuszczowymi i przez to usuwaniem produktu z powierzchni międzyfazowej, w której działa lipaza. Zrozumiałe jest zatem inhibujące działanie na aktywność HAG czynników chelatujących, np. EDTA. Hamujące działanie w stosunku do lipaz wykazują również jony metali ciężkich. Lipazy charakteryzują się większą aktywnością w stosunku do olejów, działają także lepiej w układach emulsyjnych, otrzymanych za pomocą metod mechanicznych lub przez dodatek emulgatorów. Niektóre z doniesień traktują jednak o inhibującym wpływie emulgatorów na aktywność lipazy (42).

Coraz większe zainteresowanie wzbudzają reakcje prowadzone w środowisku o subkrytycznie niskiej zawartości wody, w środowisku rozpuszczalników organicznych oraz w atmosferze nadkrytycznego CO_2 (14,15,43 – 45).

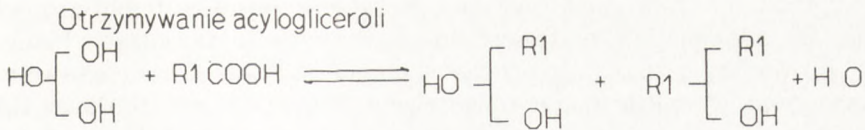
4. Wszechstronność zastosowań hydrolaz acyloglicerolowych

Hydrolazy acyloglicerolowe stosowane w biotechnologii lipidów katalizują reakcje: hydrolizy (rys. 5), estryfikacji (rys. 6), interestryfikacji oraz transestryfikacji w tym reakcji acydolizy, alkoholizy (rys. 7) (2 – 5,7).

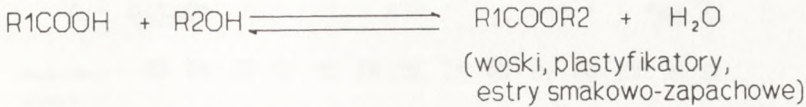
Możliwości licznych zastosowań, zwłaszcza HAG pochodzenia mikrobiologicznego, dopełnia ich różnorodna specyficzność substratowa, a także możliwości działania w różnych warunkach pH i temperatury.



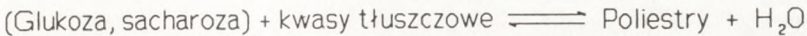
Rys. 5. Zastosowanie HAG w reakcjach hydrolizy.



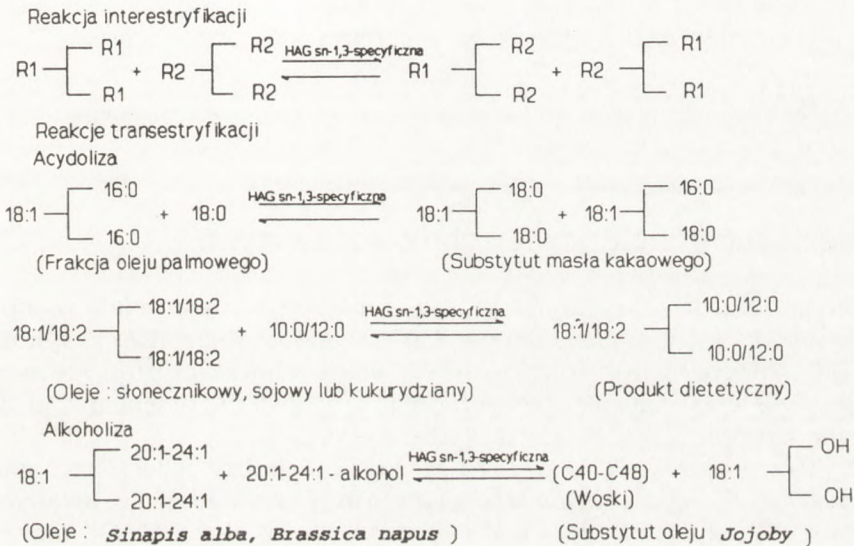
Otrzymywanie estrów



Otrzymywanie innych poliestrów



Rys. 6. Zastosowanie HAG w reakcjach estryfikacji.

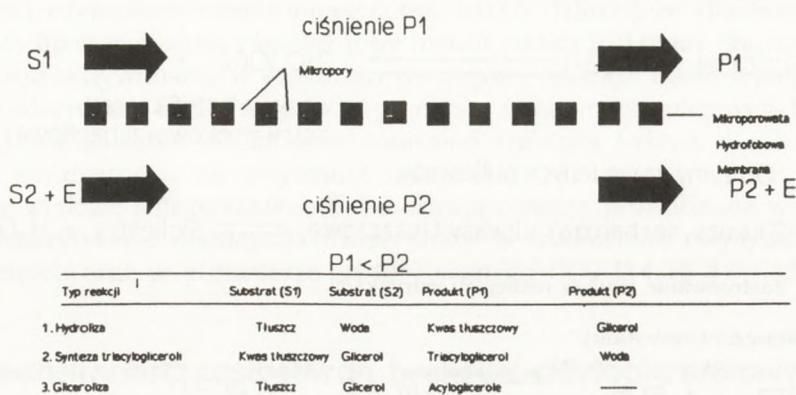


Rys. 7. Zastosowanie HAG w reakcjach inter- i transestryfikacji.

HAG katalizują także reakcje, w których biorą udział różne rozpuszczalne w wodzie substraty, co jest sprzeczne z przedstawioną wcześniej definicją HAG i stwarza niekiedy problemy z właściwym sklasyfikowaniem tych enzymów.

Pole do badań otwiera się w kierunku optymalizacji środowiska działania lipaz. Możliwość wyboru jest duża: od środowiska wodnego i emulsyjnego, poprzez micelarne, mono- i difazowe, środowisk mikrowodnych i rozuszczalników organicznych, aż do środowiska gazu nadkrytycznego i innych.

Ze względu na stosunkowo wysokie koszty preparatów lipolitycznych wymagane jest odpowiednie podejście do zagadnienia immobilizacji HAG i możliwości prowadzenia przez nie procesów ciągłych. Szczególnie ciekawe wydaje się wykorzystanie reaktorów membranowych ułatwiających działanie HAG na powierzchni międzyfazowej i zwiększających efektywność tak prowadzonych procesów (rys. 8) (4,46 – 49).



Rys. 8. Schemat mikroporowatego hydrofobowego bioreaktora membranowego.

5. Synteza substancji powierzchniowoczynnych

Duże zainteresowanie skupia synteza emulgatorów, takich jak: monoacyloglicerole (MAG), estry węglowodanów (EW) i aminokwasów (EA) z wykorzystaniem HAG. Bioemulgatory otrzymane tą drogą charakteryzują się wysokim stopniem czystości, ulegają biodegradacji i w świetle przepisów prawnych otrzymane produkty zalicza się do naturalnych.

MAG otrzymywane są w wyniku reakcji alkoholizy (glicerolizy) glicerolu i triacylogliceroli (50,51,52) bądź poprzez estryfikację glicerolu kwasami tłuszczowymi (53,54,55). Dąży się do otrzymania czystych MAG, które mają lepsze właściwości emulgujące niż mieszanina acylogliceroli. Czyste MAG można otrzymać poprzez przesuwanie równowagi reakcji w mieszaninie reakcyjnej. Doprowadza się do tego usuwając z niej MAG za pomocą metody krystalizacji (51,52) lub adsorpcji na żelach krzemowych (53).

Estry kwasów tłuszczowych i węglowodanów stanowią stosunkowo nową na europejskim rynku grupę nie jonowych emulgatorów, ale zdobywają rynek w coraz większym stopniu (tab. 2), (56). Wydajny proces syntezy tych emulgatorów przedstawia Björkling i współ. (57). Proces przebiegał w środowisku bez rozpuszczalnika, w którym alkilo-glukozydy i długołańcuchowe kwasy tłuszczowe były mieszane z termostabilną lipazą z *Candida antarctica*. Wysoką wydajność monoestrów uzyskano, gdy reakcję prowadzono w 70°C pod zredukowanym ciśnieniem.

Nagao i Kito (58) przeprowadzili estryfikację L-homoseryny z kwasem olejowym w wodno-organicznym difazowym układzie. Otrzymany emulgator charakteryzował się aktywnością emulgowania większą od: kazeiny, tweenu 40, spanu 60 i oleinianu sodu. Ten sam typ emulgatora syntetyzowano przez transestryfikację oleju sojowego i lizyny (59).

TABELA 2
EUROPEJSKI RYNEK EMULGATORÓW STOSOWANYCH W PRZEMYSLE SPOŻYWCZYM (56)

Emulgator	Wartość HLB*	Udział ilościowy w ogólnym rynku emulgatorów (%)**
mono- i diacyloglicerole oraz ich pochodne	2 - 7	73,5
lecytyny	3	20,0
estry sorbitanu	2 - 8	6,5
etoksylowane estry sorbitanu	11 - 15	
mono- i dioctowe oraz winowe estry mono- i diacylogliceroli	7	
stearyniany sodu i wapnia	4 - 6	

* HLB — (*hydrophilic-lipophilic-balance*) — równowaga hydrofilno-lipofilna, wyraża udział grupy hydrofilnej, polarnej w cząsteczce emulgatora;

** całkowity rynek emulgatorów w Europie szacowany jest na 70 000 ton.

6. Synteza substancji smakowo-zapachowych

Stwierdzono możliwość wykorzystania HAG do katalizowania reakcji syntezy krótkołańcuchowych estrów smakowych, takich jak octan izoamylu — występujący w bananach (60) i butyrynian etylowy — występujący w truskawkach (61,62).

Zdolność HAG do enancjoselektywnego działania jest często wykorzystywana w syntezie estrów smakowych. Przykładem jest produkcja chiralnych estrów hydroksykwasów, które występują wśród owoców tropikalnych (63). Oprócz syntezy estrów, możliwości stereoselektywnej estryfikacji prowadzonej przez HAG jest wykorzystywana do rozdzielania mieszanin racemicznych, np. d.l-metolu (64).

Jeżeli alkohol i kwas występują jako jedna cząsteczka, może mieć miejsce wewnątrzcząsteczkowa estryfikacja. Wykazano możliwość katalizowania przez HAG reakcji przekształcania hydroksykwasów do makrocyklicznych mono- i oligolaktonów (65). Makrocykliczne laktony są substancjami aromatycznymi stosowanymi w przemyśle perfumeryjnym.

7. Synteza tłuszczów teksturyzowanych

Synteza triacylogliceroli o charakterystycznych właściwościach żywieniowych i fizycznych jest bardzo pożądana w technologii żywności. Znane są przykłady produkcji substytutów masła kakaowego za pomocą metody enzymatycznej acydolizy oleju palmowego i kwasu stearynowego, katalizowanej przez 1,3-specyficzną HAG (66). Skład otrzymanego produktu jest prawie taki sam jak naturalnego masła kakaowego.

Obniżenie temperatury topnienia tłuszczu mlekowego (masła) otrzymano po reakcji interestryfikacji katalizowanej przez niespecyficzną HAG (67). Dla zapobieżenia reakcji hydrolizy, podczas reakcji acydolizy (otrzymywanie substytutu masła kakaowego), jak i interestryfikacji (obniżenie temperatury topnienia masła) konieczne jest utrzymywanie zawartości wody w układzie reakcyjnym na niskim poziomie. Dotyczy to także prowadzenia reakcji estryfikacji glicerolu i kwasów tłuszczowych, w wyniku której powstają określone triacyloglicerole, jak i innych reakcji syntezy katalizowanych przez HAG. Usunięcie wody daje możliwość uzyskania czystych triacylogliceroli zamiast mieszaniny mono-, di-, i triacylogliceroli.

8. Synteza mono- i polimerów

Zainteresowanie syntezą estrów, katalizowaną przez HAG, dotyczy oprócz wymienionych już zastosowań w przemyśle spożywczym także przemysłu chemicznego. HAG katalizują estryfikację dioli z kwasami akrylowym i metaakrylowym, w wyniku której otrzymuje się monomery dla przemysłu tworzyw sztucznych (68,69). Enzymatyczna synteza polimerów z udziałem HAG została również opisana (70). Dzięki reakcji politransestryfikacji diestrów kwasu fumarynowego i 1,4-butanodiolu, katalizowanej przez lipazę otrzymano alkidy (nienasycone poliestry), (71,72).

9. Synteza amidów

Lipazy katalizują także reakcje syntezy N-laurylooleoamidu (73) i innych tłuszczów amidowych (74). Tłuszcze amidowe mają wysoką temperaturę topnienia, a ich właściwości fizyczne i chemiczne są stabilne. Znajdują one zastosowanie w przemyśle tekstylnym, drzewnym, metalowym, gumowym oraz w technologii tworzyw sztucznych.

Hydroksyamidy kwasów tłuszczowych były syntetyzowane, również przy wykorzystaniu HAG, w wyniku reakcji hydroksyamin z kwasami tłuszczowymi (75). Ten chelatujący związek jest stosowany w analitycznej chemii, agronomii i terapeutycznie.

Bardzo ciekawe zdolności HAG wykazali Margolin i Klibanov (76). Stwierdzili oni przydatność HAG w syntezie peptydów.

10. Podsumowanie

W opracowaniu przedstawiono możliwości zastosowań HAG w biotechnologii. Wskazano na ogromne możliwości katalityczne lipaz oraz ich różnorodność. Duża liczba możliwych zastosowań lipaz powinna skłaniać do poznania wszystkich elementów dotyczących ich biosyntezy, właściwości, metod oczyszczania, a także do podejmowania badań na poziomie molekularnym, dotyczących doskonalenia i modyfikacji HAG. Jest to również wyzwanie do współpracy biofizyków, biologów, biochemików oraz genetyków.

Literatura

1. Frost A., Sullivan G., (1990), *Food Eng.*, 62, 2, 32.
2. Brockerhoff H., Jensen G.J., *Lipolytic enzymes*, (1974), Academic Press, New York, San Francisco, 9 – 48.
3. Mukherjee K.D., (1990), *Biocatal.*, 3, 277 – 293.
4. Yamane T., (1987), *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 64, 12, 1657 – 1662.
5. Macarae A.R., Hammond R.C., (1985), *Biotechnol. Genet. Eng. Rev.*, 3, 193 – 217.
6. Tombs M.P., (1991), *Enzymes in Food Processing*, Eds. Tucker G.A., Woods L. F. J., Glasgow, 239 – 261.
7. Borgström B., Brockman H.L., (1984), *Lipases*, Amsterdam, New York, Oxford, 5 – 37.
8. *Chemia bioorganiczna*, (1994), Kafarski P., Lejczak B., PWN, Warszawa, 11 – 47.
9. Kilar A., (1985), *Process Biochem.*, 20, 2, 35 – 45.
10. Antczak T., (1991), *Biotechnologia*, 1, 11, 62 – 70.
11. Antczak T., Hiler D., Galas E., (1993), *Biotechnologia*, 1, 20, 59 – 67.
12. Klivanov A.M., (1989), *Trends Biochem. Sci.*, 14, 141 – 144.
13. Lilly M.D., (1982), *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, 32, 162 – 169.
14. Zaks A., Russell A.J., (1988), *J. Biotechnol.*, 8, 259 – 270.
15. Zaks A., Klivanov A.M., (1988), *J. Biol. Chem.*, 263, 7, 3194 – 3201.
16. Hedrich H.Ch., Spener F., Menge U., Hecht J., Schmid R.D., (1990), *Enzyme Microb. Technol.*, 13, 840 – 847.
17. Tombs M. P., (1982), *Biochem. Biophys. Acta*, 700, 81 – 89.
18. Shimada Y., Sugihara A., Tominaga Y., Iizumi T., Tsunasawa S., (1989), *J. Biochem.*, 106, 383 – 388.
19. Sugihara A., Shimada Y., Tominaga Y., (1990), *J. Biochem.*, 107, 703 – 707.
20. Vassel B., Hecht H.J., Schmid R.D., Schomburg D., (1993), *J. Biotechnol.*, 28, 99 – 115.
21. Rollof J., Hedstroem S., Nilsson E.P., (1989), *APMIS*, 97, 9 – 13.
22. Baillargeon M.W., (1990), *Lipids*, 25, 841 – 847.
23. Jacobsen T., Olsen J., Allermann K., (1989), *Enzyme Microb. Technol.*, 11, 90 – 95.
24. Jacobsen T., Poulsen O.M., (1992), *Can. J. Microbiol.*, 38, 75 – 80.
25. Sonnet P.E., (1988), *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 65, 900 – 904.
26. Boel E., Hüge-Jensen B., Christensen L., Thim L., Fiil N., (1988), *Lipids*, 23, 701 – 706.
27. Brady R.L., Brzozowski A.M., Derewenda Z.S., Dodson E., Dodson G., Tolley S., Turkenburg J.P., Christiansen L., Hüge-Jensen B., Nørskov L., Menge U., (1990), *Nature*, 343, 767 – 770.
28. Brzozowski A.M., Derewenda U., Derewenda Z.S., Dodson G.G., Lawson D.W., Turkenburg J.P., Bjorkling F., Hüge-Jensen B., Patkar S.A., Thim L., (1991), *Nature*, 351, 491 – 494.

29. Schrag J.D., Li Y., Wu S., Cygler M., (1991), *Nature*, 351, 761 – 764.
30. Hüge-Jensen B., Galuzzo D.R., Jensen R.G., (1987), *Lipids*, 22, 559 – 565.
31. Tombs M.P., Blake G., (1982), *Biochem. Biophys. Acta*, 700, 81 – 89.
32. Hadeball W., (1991), *Acta Biotechnol.*, 11, 2, 159 – 167.
33. Jacobsen T., Olsen J., Allermann K., (1990), *Biotechnol. Lett.*, 12, 2, 121 – 126.
34. Schuch R., Mukhrejee K.D., (1987), *Z. Naturforsch.*, 42c, 1285 – 1290.
35. Sonnet P.E., Antonian E., (1988), *J. Agric. Food Chem.*, 36, 856 – 862.
36. von Lazar G., Henkel K., (1985), *Fett Seifen Anstrichm.*, 10, 394 – 400.
37. Ibrahim Ch.O., Hayashi M., Nagai S., (1987), *Agri. Biol. Chem.*, 51, 1, 37 – 45.
38. Ibrahim Ch.O., Nishio N., Nagai S., (1987), *Agri. Biol. Chem.*, 51, 8, 2145 – 2151.
39. Zaks A., Klibanov A.M., (1984), *Sciences*, 224, 1249 – 1251.
40. Watanabe N., Ota Y., Minoda Y., Yamada K., (1977), *Agric. Biol. Chem.*, 41, 1353 – 1358.
41. Jacobsen T., Jensen B., Olsen J., Allermann K., (1989), *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 32, 1, 256 – 261.
42. Harris P.L., Cuppett S.L., (1993), *J. Food Proct.*, 56, 541 – 542, 554.
43. Chulalaksananukul W., Condort J.S., Combes D., (1993), *Enzyme Microb. Technol.*, 15, 691 – 698.
44. Marty A., Chulalaksananukul W., Willemot R.M., Condoret, (1992), *Biotechnol. Bioeng.*, 39, 273 – 280.
45. Chi Y.M., Nakamura K., Yano T., (1988), *Agric. Biol. Chem.*, 52, 6, 1541 – 1550.
46. Guit R.P.M., Kloosterman, Meindersma G.W., Mayer M., Meijer E.M., (1991), *Biotechnol. Bioeng.*, 38, 7, 727 – 732.
47. van der Padt A., Edema M.J., Sewalt J.J.W., van't Riet K., (1990), *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 67, 6, 347 – 357.
48. Prazeres D.M.F., Garcia F.A.P., Cabral J.M.S., (1993), *Biotechnol. Bioeng.*, 41, 761 – 770.
49. Habulin M., Knez Z., (1991), *J. Membrane Sci.*, 61, 315 – 324.
50. Holmberg K., Lassen B., Stark M.B., (1989), *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 66, 1796 – 1800.
51. McNeill G.P., Shimizu S., Yamane T., (1991), *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 68, 1 – 5.
52. McNeill G.P., Yamane T., (1991), *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 68, 6 – 10.
53. van der Padt A., Keurentjes J.T.F., Sewalt J.J.W., van Dam E.M., van Dorp L.J., van't Riet K., (1992), *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 69, 748 – 754.
54. Weiss A., (1990), *Fat Sci. Technol.*, 92, 392 – 396.
55. Yamaguchi S., Mase T., (1991), *J. Ferment. Bioeng.*, 72, 162 – 167.
56. Harwood J., (1989), *TIBS*, 14, 125 – 126.
57. Björkling F., Godtfredsen S.E., Kirk O., (1989), *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 14, 934 – 935.
58. Nagoa A., Kito M., (1989), *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 66, 710 – 713.
59. Montet D., Pina M., Graille J., Renard G., Grimaud J., (1989), *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 67, 771 – 774.
60. Langrand G., Triantaphylides C., Baratti J., (1988), *Biotechnol. Lett.*, 10, 549 – 554.
61. Gillies B., Yamazaki H., Armstrong D.W., (1987), *Biotechnol. Lett.*, 9, 709 – 714.
62. Welsh F.W., Williams R. E., (1990), *Enzyme Microb. Technol.*, 12, 743 – 748.
63. Engel K.H., Bohnen M., Dobe M., (1991), *Enzyme Microb. Technol.*, 13, 655 – 660.
64. Langrand G., Baratti J., Buono G., Triantaphylides C., (1986), *Tetrahedron Lett.*, 27, 29 – 32.
65. Antczak U., Góra J., Antczak T., Galas E., (1991), *Enzyme Microb. Technol.*, 13, 589 – 593.
66. Macrae A.R., (1983), *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 60, 291 – 294.
67. Kalo P., Huotari H., Antila M., (1989), *Fat Sci. Technol.*, 91, 276 – 281.
68. Hajjar A.B., Nicks P.F., Knowles C.J., (1990), *Biotechnol. Lett.*, 12, 825 – 830.

69. Tor R., Dror Y., Freeman A., (1990), *Enzyme Microb. Technol.*, 12, 299 – 304.
70. Dordick J.S., (1992), *TIBTECH*, 10, 287 – 293.
71. Geresh S., Gilboa Y., (1990), *Biotechnol. Bioeng.*, 36, 270 – 274.
72. Geresh S., Gilboa Y., (1991), *Biotechnol. Bioeng.*, 37, 883 – 888.
73. Montet D., Pina M., Graille J., Renard G., Grimaud J., (1989), *Fat Sci. Technol.*, 91, 14 – 18.
74. Bistline R.G., Bilyk A., Fearheller S.H., (1991), *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 68, 95 – 98.
75. Servat F., Montet D., Pina M., Galzy P., Arnaud A., Ledon H., Marcou L., Graille J., (1990), *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 67, 646 – 649.
76. Margolin A.L., Klibanov A.M., (1987), *J. Am. Chem. Soc.*, 109, 3802 – 3804.

Lipases — tool in oils and fats biotechnology

Summary

Lipases (acylglycerol hydrolases EC 3.1.1.3) comprise a group of enzymes of widespread occurrence. Their biological function is to catalyse the hydrolysis of triacylglycerols to give free fatty acids, diacylglycerols, monoacylglycerols and glycerol. This reaction is reversible, so that the enzymes also catalyse the formation of acylglycerols. A feature which differs lipases from other enzymes is their activity on water-insoluble substrates, at oil-water interface. Interest in lipases from different sources, in particular from microorganisms, has markedly increased in the last decade due to the potential applications of lipases in food industry, chemical industry, chemistry, biochemistry and medicine.

Key words:

lipase, biotechnology of lipids.

Adres dla korespondencji:

Marek Adamczak, Instytut Biotechnologii Żywności, Akademia Rolniczo-Techniczna, ul. Heweliusza 31, 10-718 Olsztyn-Kortowo.