

Artykuły przeglądowe



Glutation – jego znaczenie i możliwości biosyntezy mikrobiologicznej

Kenneth O. Udeh
Bohdan Achremowicz
Katedra Technologii Przemysłu
Rolno-Spożywczego i Przechowalnictwa
Akademia Rolnicza
Lublin

1. Wprowadzenie

W ostatnich latach skażenie środowiska staje się coraz groźniejsze dla zdrowia człowieka. Jest ono głównie związane z nagromadzeniem się toksycznych odpadów przemysłowych, nadmiernym używaniem nawozów sztucznych i pestycydów, prowadzącym do skażenia żywności trującymi substancjami oraz powodującym wzrost liczby zachorowań na choroby onkogenne. Z tych powodów zachodzi konieczność poszukiwania sposobów pozyskiwania organicznych bioreduktorów możliwych do stosowania jako dodatki do żywności, obniżające stopień toksyczności szkodliwych substancji.

Jednym z takich związków – występującym w organizmach zwierząt, roślin i w mikroorganizmach, zdolnym do eliminowania lub redukcjonowania toksycznego działania różnych elektrofilnych substancji w organizmie człowieka – jest glutation (GSH) (2,5). Ten ważny niskocząsteczkowy związek siarkowy odgrywa istotną fizjologiczną rolę w procesach oksydoredukcyjnych, związanych m.in.

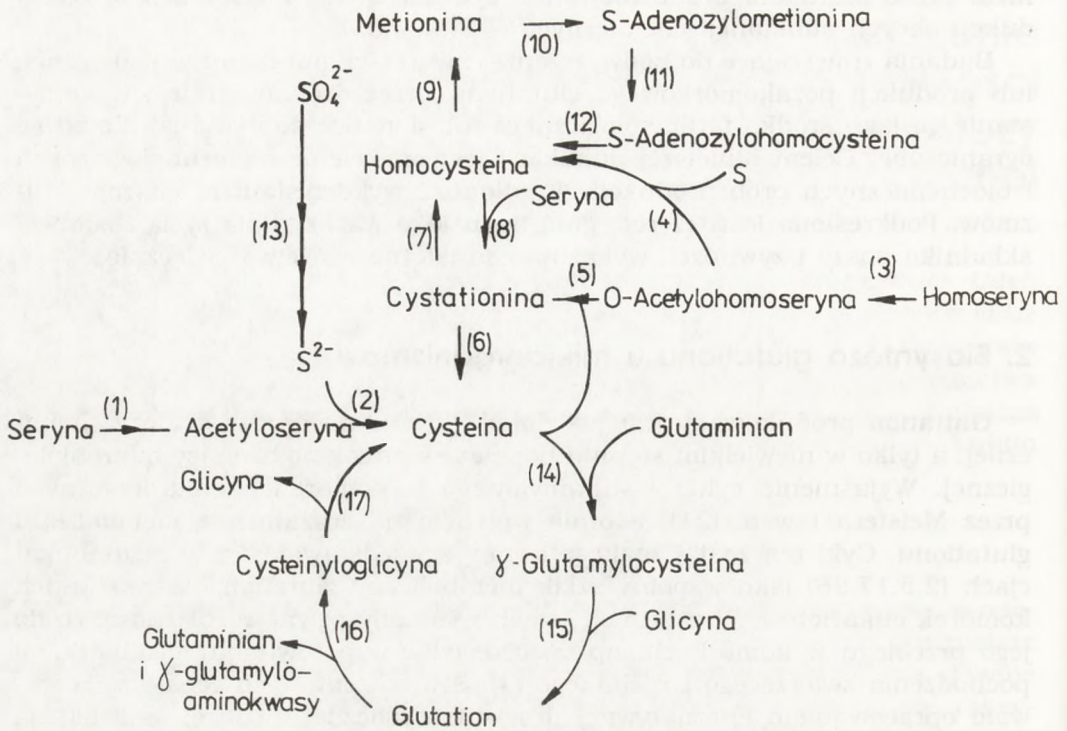
z detoksyfikacją ksenobiotyków, eliminacją nadtlenu wodoru, zabezpieczeniem przed skutkami promieniowania, syntezą DNA i mechanizmem bioredukcji obcych substancji chemicznych (1,3,5,21,31).

Badania zmierzające do podwyższenia zawartości glutationu w komórkach lub produkcji pozakomórkowego glutationu przez drobnoustroje i wykorzystanie go jako środka farmakologicznego lub dodatku do diety, jak dotąd są ograniczone. Celem niniejszej publikacji jest omówienie biotechnologicznych i biochemicznych prób produkcji glutationu z wykorzystaniem mikroorganizmów. Podkreślona jest też rola glutationu jako ważnego dla życia i zdrowia składnika paszy i żywności, wykazującego istotne właściwości lecznicze.

2. Biosynteza glutationu u mikroorganizmów

Glutation produkowany jest jak dotąd głównie na drodze syntezy chemicznej, a tylko w niewielkim stopniu poprzez ekstrakcję z biomasy mikrobiologicznej. Wyjaśnienie cyklu γ -glutamylowego w komórkach eukariotycznych przez Meistera i wsp. (21), istotnie wpłynęło na zrozumienie metabolizmu glutationu. Cykl ten został zaakceptowany i przedstawiony w wielu publikacjach (2,5,17,26) jako wspólny szlak metaboliczny glutationu dla wszystkich komórek eukariotów. W ostatnich latach wystąpiły pewne rozbieżności co do jego przebiegu w komórkach, np. *S. cerevisiae* w porównaniu z komórkami pochodzenia zwierzęcego i roślinnego (4). Stwierdzenie tych różnic zaowocowało opracowaniem alternatywnej drogi metabolicznej, będącej modyfikacją cyklu przedstawionego przez Meistera i wsp. (21). Zaobserwowano, że u drożdży *S. cerevisiae* szlak metaboliczny glutationu może przebiegać poprzez dobrze znaną drogę cystationiny (4,20). Proponowany schemat cyklu γ -glutamylowego i główny szlak przemian siarki w komórkach *S. cerevisiae* (rys. 1) różni się od cyklu metabolicznego w komórkach zwierzęcych i roślinnych, tym że w degradacji glutationu u drożdży bierze udział tylko transpeptydaza γ -glutamylowa i dwupeptydaza cysteinyl-glicyny, co prowadzi do tworzenia glutaminianu i γ -glutamyl-aminokwasów (reakcja 16) (4). Natomiast, w przypadku komórek roślinnych i zwierzęcych zachodzą dodatkowe reakcje katalizowane przez cyklotransferazę γ -glutamylową i 5-oksoprolinazę, co prowadzi do tworzenia tylko glutaminianu (17,21,31). Szereg wykonanych badań wskazuje na funkcjonowanie pełnego dwukierunkowego szlaku transsulfuryzacji w komórkach drożdży *S. cerevisiae* (4,20,24). Istnieje zatem możliwość włączania atomów siarki z metioniny, cysteiny i cystyny do glutationu poprzez szlak cystationiny oraz cykl γ -glutamylowy i odwrotnie. Przy obecności związków siarki w pożywce, większość będących w nadmiarze atomów S jest włączanych do glutationu (4). W takich warunkach aktywność γ -transpeptydazy glutamylowej jest niska, a rozkład glutationu nadzwyczaj wolny.

Obserwowana współzależność między cyklem γ -glutamylowym a metabolizmem związków siarki pozwoliła na wysunięcie hipotezy, że cykl ten może oddziaływać na pokrycie zapotrzebowania komórek na cysteinę przez udział



Rys.1. Schemat cyklu γ -glutamylowego i metabolizmu siarki u *S.cerevisiae* (4): 1 - acetylotransferaza seryny; 2 - syntetaza cysteiny; 3 - acetylotransferaza homoseryny; 4 - syntetaza homoseryny; 5 - syntetaza γ -cystationiny; 6- γ -cystationaza; 7 - β -cystationaza; 8 - syntetaza β -cystationiny; 9 - metylotransferaza homocysteiny; 10 - syntetaza S-adenozylometioniny; 11 - demetylaza S-adenozylometioniny; 12 - adenozylohomocysteinaza; 13 - szlak redukcji siarczanów; 14 - syntetaza γ -glutamylcysteiny; 15 - syntetaza glutationu; 16 - γ -glutamylotranspeptydaza; 17 - dipeptydaza cysteinylglicyny.

w ogólnej regulacji metabolizmu siarki. Spostrzeżenia te mogą wskazywać na możliwość nadprodukcji glutationu przez mikroorganizmy, wymaga to jednak dalszych badań jego metabolizmu.

3. Biotechnologiczne i biochemiczne problemy syntezy glutationu

3.1. Procesy biotechnologiczne

Pomimo że przy zastosowaniu mutacji i inżynierii genetycznej wyświetlono mechanizm biosyntezy glutationu przez mikroorganizmy uzyskane rezultaty nie spełniły oczekiwań stawianych przez przemysł biotechnologiczny. Dotych-

czas hodowle drobnoustrojów wytwarzających odpowiednio wysoką zawartość wewnątrzkomórkowego glutationu prowadzono w warunkach tlenowych na różnych podłożach (7,12,33,34). Istnieją trudności w uzyskaniu wysokiej produkcji glutationu, wynikają one z tego, że nie opracowano sposobu regulacji jego biosyntezy, a ponadto występują problemy związane z selekcją i poszukiwaniem odpowiedniego szczepu. Drobnoustroje używane do tego celu obejmują drożdże takie, jak *S. cerevisiae*, *Candida utilis*, *Pichia* sp., *Brettanomyces* sp., *Hansenula* sp. Większość ze stosowanych mikroorganizmów była mutantami opornymi lub wrażliwymi na L- lub DL-etioninę (antymetabolit metioniny) i różne chemiczne preparaty, chociaż używano także dzikie szczepy wymienionych drożdży (1,11,13,28,32,37). W dostępnej literaturze napotkano tylko jednego przedstawiciela bakterii *E. coli* – był to cysteino-auksotroficzny mutant oporny na metyloglioksal, który użyty do syntezy pozakomórkowego glutationu dał 60% wzrost wydajności w porównaniu do szczepu wyjściowego (25). W tym procesie użyto prekursorów glutationu w formie samej L-cysteiny lub w kombinacji z kwasem glutaminowym czy glicyną. W pewnych procesach L- lub DL-metionina (13) jest dodawana jako czynnik indukujący produkcję. Enzymy syntetyzujące glutation wymagają jonów K^+ i Mg^{2+} jako kofaktorów, a proporcja tych jonów jest istotna dla optymalizacji wydajności glutationu (1,8). Wydajności uzyskiwane w tych procesach mieszczą się zwykle w zakresie 4-95 mg glutationu/g s.m. komórkowej. Opracowano również sposoby hodowli metodami fotofermentacji zielonych glonów, np. *Dunaliella* sp., *Phormidium ochai* i *Spirulina* sp. w komórkach, w których uzyskano zwiększenie zawartości glutationu (13). Optymalne naświetlenie ok. 2000-2500 Lx, a uzyskany plon wynosił 2,5 mg glutationu na g s.m. komórek. Hodowle prowadzono również w warunkach natlenienia podłoża na różnych pożywkach zawierających prekursorzy glutationu.

Technikę inżynierii genetycznej wykorzystano do izolacji z *E. coli* fragmentów genów chromosomalnych zawierających pojedyncze lub podwójne geny *gsh-1* i *gsh-11*, a następnie za pomocą wektorów plazmidowych wprowadzono je do komórek różnych mikroorganizmów. W ten sposób uzyskano ekspresję odpowiednich genów w celu zwiększenia biosyntezy wewnątrzkomórkowego glutationu (6,26,27,38). Jest to nowe podejście do problemu. Technika ta przyniosła nowy typ wzmocnienia genu bazując na podwójnej polimeryzacji fragmentu DNA w komórce *E. coli* (38). Otrzymane podwojone lub potrojone fragmenty DNA były wstawiane w położenia Bam H1 wektora plazmidu pBR-325. Zgodnie z oczekiwaniami, aktywność komórki w syntezie glutationu wzrastała wraz ze zwiększeniem liczby wprowadzonych kopii plazmidu. Według Wana-tabe i wsp. (37) aktywność komórek zawierających polimeryzowane geny glutationu wykazała nieznaczny wzrost syntezy glutationu w porównaniu do komórek zawierających pojedyncze geny *gsh-1* lub oba geny *gsh-1* i *gsh-11*. U drożdży *S. cerevisiae* wprowadzenie pojedynczych genów *gsh-1* spowodowało 30% wzrost produkcji, natomiast wprowadzenie obu genów wywołało 40% przyrost aktywności właściwej enzymów odpowiedzialnych za biosyntezę glutationu w porównaniu do szczepów wyjściowych (3).

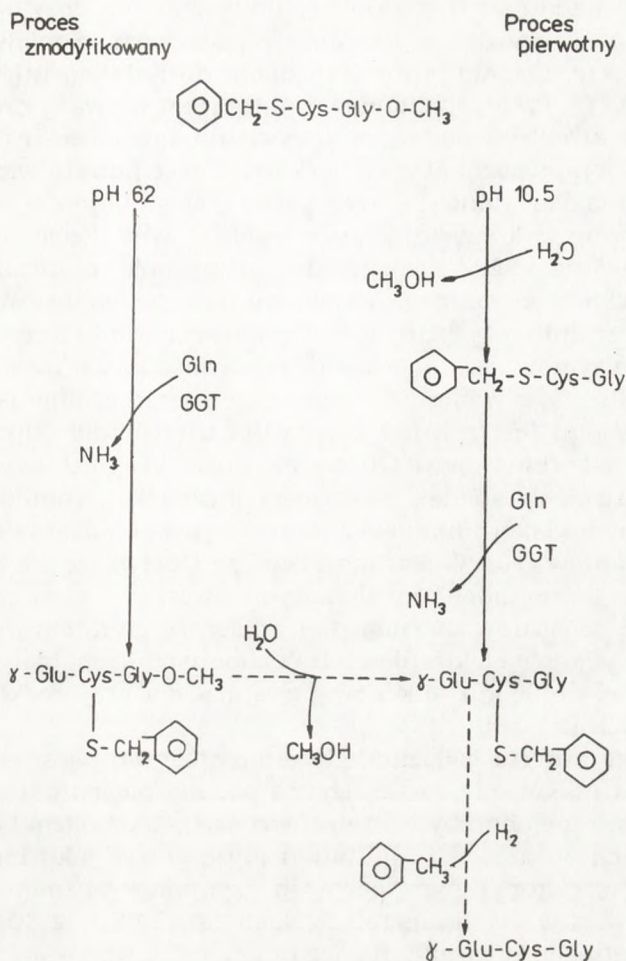
3.2. Procesy enzymatyczne w syntezie glutationu

Biochemiczna metoda produkcji glutationu przedstawiona po raz pierwszy przez Blocha (2) obejmuje dobrze znaną dwustopniową zależną od ATP enzymatyczną reakcję katalizowaną przez γ -glutamylcysteino syntetazę (EC 6.3.2.2.) i syntetazę glutationu (EC 6.3.2.3) w obecności prekursorów. Użył on enzymów ekstrahowanych z wątroby szczura. W późniejszych badaniach wykorzystano do biochemicznej syntezy glutationu enzymy otrzymane (ekstrahowane) z mikroorganizmów np. *E. coli* i *S. cerevisiae* (6-8). Zastosowanie tych metod sprawdzono w bioreaktorze prowadząc hodowle traktowanych toluenem komórek *E. coli* B – zmienionych przez wprowadzenie plazmidu z genami *gsh-1* i *gsh-11*. Całe komórki *S. cerevisiae* unieruchomione w żelu poliakryloamidowym lub κ -karagenanie użyto do ciągłej produkcji glutationu w obecności prekursorów, wykorzystując system glikolizy tych komórek jako źródło energii. W literaturze były również przedstawiane inne procesy, obejmujące koimmobilizację komórek *E. coli* (syntetaza glutationu) i *S. cerevisiae* (wytwarzanie ATP) (6,8).

Opracowano także sposoby wydzielania i oczyszczania γ -glutamylowej transpeptydazy z różnych organizmów (16,35,36), a użycie tego enzymu do biosyntezy glutationu jest nowym podejściem do problemu.

W ostatnich latach badacze japońscy zastosowali transpeptydazę γ -glutamylową z *E. coli* K12 do syntezy glutationu (15). Enzym ten wykorzystano do produkcji analogów glutationu, które są przekształcane do glutationu na drodze syntezy chemicznej. Wiadomo, że enzym ten katalizuje przeniesienie reszty γ -glutamylowej z γ -glutamylowych związków do aminokwasów i peptydów, a także hydrolizuje związki γ -glutamylowe (17,21). W procesie syntezy glutationu przy użyciu transpeptydazy γ -glutamylowej, materiałem wyjściowym był związek metylo-S-benzoilo-cysteinyloglicyna (S-Bz CysGlyOMe) (15). Służył on jako akceptor γ -glutamylu, który pochodził z L-glutaminy. W wyniku tej reakcji otrzymano dwa produkty pośrednie, stosując dwa różne procesy. W pierwszym, materiał wyjściowy poddano wstępnej demetylacji, a następnie prowadzono reakcję w obecności transpeptydazy γ -glutamylowej i L-glutaminy przy pH 10,2. W ten sposób otrzymano pierwszy produkt pośredni, który określono jako S-benzoilo-GSH lub S-benzoilo-glutamyl-cysteino-glicyna (SBzGluCysGly). Natomiast, w przypadku zmodyfikowanego procesu, materiał wyjściowy poddano bezpośredniemu działaniu tego enzymu w obecności L-glutaminy przy pH 6,2, co prowadziło do tworzenia drugiego produktu pośredniego o nazwie ester metylowy S-benzoilo- γ -glutamyl-cysteinylo glicyny (S-BzGluCysGlyOMe), z którego w procesie demetylacji uzyskano ponownie pierwszy produkt pośredni. Następnie, aby otrzymać glutation w obu metodach zastosowano hydrogenolizę oddzielającą grupę benzoilową. Stopień konwersji wyjściowego S-BzCysGlyOMe do glutationu w procesie pierwotnym i zmodyfikowanym wynosi odpowiednio 21% i 76% (rys. 2).

Zaletą tego procesu jest niski koszt związany z brakiem konieczności dostarczenia nośników energii w postaci ATP oraz dostępnością L-glutaminy i materiału wyjściowego.



Rys. 2. Schemat enzymatyczno-chemicznej syntezy glutationu (15).
Gln – glutamina, transpeptydaza GGT- γ -glutamylowa.

4. Znaczenie dietetyczne i medyczne glutationu

Dietetyczna wartość glutationu leży w jego zdolności do wzmacniania wielu życiowych procesów biologicznych, zachodzących w organizmie człowieka, szczególnie związanych z przeprowadzeniem detoksyfikacji. Ten działający wszechstronnie protektor jest obecnie uważany za niezbędny dodatek do paszy i żywności. Podawany doustnie glutation (30 μmol lub 2,5-50,0 mg/g) w postaci płynnego pokarmu – lub w formie syntetycznej – w diecie szczurów był pobierany i absorbowany w jelicie czczym i wywoływał zwiększenie pozio-

mu glutationu wolnego w plazmie oraz glutationu związanego z białkiem. Przeprowadzone badania i uzyskane rezultaty z *in situ* dożylnego podawania szczurom GSH wskazywały, że jelito czcze jest głównym miejscem absorpcji glutationu, a także dysponuje mechanizmem do redukcji utlenianego glutationu (GSSG) (9,10). Prawdopodobnie glutation jest używany do detoksyfikacji reaktywnych elektrofilów w podanym pożywieniu lub może być absorbowany dla detoksyfikacji prowadzonej w komórkach. Z tego punktu widzenia, drożdże paszowe lub biomasa glonów – wzbogacone w glutation – mogą stanowić nową, cenną formę wykorzystania tych produktów w diecie.

Glutation zawiera ważne funkcjonalne grupy tiolowe, disiarczkowe i wiązania γ -glutamylowe, które mogą zwiększyć jego dostępność w tkankach. Te jego cechy, szczególnie rola grupy -SH w podtrzymywaniu aktywności różnych enzymów i koenzymów w komórkach, aktywność w zakresie detoksyfikacji i eliminacji nadtlenków wodoru w organizmie są szczególnie istotne (1,5,21). Obecność glutationu jest również ważna dla utrzymania odpowiedniego poziomu kwasu askorbinowego. Obniżenie poziomu glutationu powodowało w badanych ustrojach spadek zawartości kwasu askorbinowego wywołany tworzeniem dehydroaskorbinianów, z konsekwencją obniżania ich aktywności jako antyoksydantów (19). Wykazano także, że GSH wiąże się z różnymi substancjami, które są metabolitami tlenowymi, tworząc z nimi związek poprzez siarkę w obecności grupy enzymów S-transferazy glutationu. Prowadzą one nie tylko detoksyfikację elektrofilowych pochodnych ksenobiotyków, ale także endogennych elektrofilów, np. alkenów powstających przy rozkładzie nadtlenków tłuszczowych (21,29).

Z medycznego punktu widzenia, glutation stosowany jest jako środek farmaceutyczny od czasu, gdy został użyty i podany pacjentom w Japonii cierpiącym na chroniczne choroby wątroby (*cirrhosis*), alkoholizm i choroby skóry. Szereg obserwacji wykazało, że glutation może służyć jako modulator redukujący toksyczność komórkową pewnych czynników chemoterapeutycznych (preparatów cytostatycznych), metali ciężkich etc. (14,20-22,30,39). Podawany do organizmu egzogenny glutation i jego monoestry wpływają na zwiększenie komórkowej zawartości tego związku, co powoduje obniżenie toksycznego działania różnych cytostatycznych czynników, jak adriamycyna (ADM), cisplatyna (CDDP) i promienie X. Mechanizm tego działania nie jest dokładnie poznany i wymaga dalszych badań. Według Moorea i wsp. (23) szczep *E. coli* z wprowadzonymi genami *gsh-1* i *gsh-11* wykazywał większą odporność na letalne dawki γ -promieniowania niż odpowiedni szczep dziki. Te zaobserwowane efekty były spowodowane zwiększoną zdolnością genetycznie zmienionego szczepu do syntezy glutationu. Genetyczny i nabyty niedobór enzymów syntetyzujących glutation okazał się przyczyną wielu ludzkich chorób, np. 5-oksoprolinurii, która charakteryzuje się wydalaniem z moczem dużych ilości 5-okso-proliny (2,5-35,0 g/dzień) oraz wzrostem we krwi i w płynie mózgowo-rdzeniowym jej poziomu, powstawaniem zakwaszenia metabolicznego, tendencją do hemolizy i defektów centralnego systemu nerwowego (17,21). Informowano również o mitochondrialnych uszkodzeniach mózgu u szczurów

pozbawionych zdolności syntetyzowania glutationu. W pewnych przypadkach podawanie glutationu i jego monoetyloestrów redukowało w istotny sposób te symptomy (18,19).

5. Podsumowanie

Obecny stan wiedzy i zaawansowania badań urealniają perspektywy rozszerzenia produkcji glutationu drogą syntezy mikrobiologicznej, chociaż potencjalne możliwości nie są tu jeszcze w pełni wykorzystane. Aby zwiększyć jego produkcję, uczynić bardziej opłacalną w porównaniu do metod syntezy chemicznej, należy dalej prowadzić stosowne badania biochemiczne, genetyczne i biotechnologiczne. Rola glutationu jako dodatku do żywności, istotnego dla zdrowia organizmu i koniecznego dla detoksykacji komórek nie jest już przedmiotem kontrowersji. Badania oparte na nowych koncepcjach biosyntezy glutationu przez mikroorganizmy przy zastosowaniu mutacji i inżynierii genetycznej powinny być głównym kierunkiem poszukiwań. Inny istotny problem dotyczący glutationu, chociaż nie omówiony w tej publikacji, obejmuje trudności związane z jego analizą. Istnieje potrzeba opracowania szybkich i bardziej czułych metod oznaczania ilościowego. Wymaga to odpowiedniej uwagi, gdyż jak dotychczas nie opracowano niezawodnych metod analizy glutationu.

Literatura

1. Bauer W., (1986), *Can. J. Chem. Eng.*, 64, 556-561.
2. Bloch K., (1949), *I. Biol. Chem.*, 188, 221-240.
3. Christie H. L., Ulf S., (1989), *Eur. Pat.*, 300, 168 A2.
4. Elskens T. M., Jasper I. C., Penninckx T. M., (1991), *J. Gen. Microbiol.*, 137, 637-644.
5. Fahey R. C., Sundquist R. D., (1991), *Adv. Enzymol. and Related Areas Mol. Biol.*, 64, 1-53.
6. Fukui S., Tanaka A., (1982), *Ann. Rev. Microbiol.*, 36, 145-172.
7. Gachhui R., Pahan K., Ray S., Chaudhuri I., Mandal A., (1990), *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 46, 336-342.
8. Gushima H., Miya T., Murata K., Kimura A., (1983), *J. Appl. Biochem.*, 5, 43-52.
9. Hagen T. M., Wierzbicka G. T., Sillan A. I., Bowman B. B., Jones D. P., (1990), *Am. J. Physiol.*, 259, 524-529.
10. Hagen T. M., Wierzbicka G. T. M., Bowman B. B., Aw T. Y., Jones D. P., (1990), *Am. J. Physiol.*, 259, 9530-9535.
11. Hamada S., Tanaka H., Sakato K., (1986), *U-S. Pat.* 4, 582.
12. Hitoshi K., Akiru K., Hitoshi Y. (1973), *J. P.* 73, 44, 487.
13. Hitoshi S. H., Yoshihiro S., (1987), *J. P.* 6248, 396.
14. Hosking K. L., Whelan H. D. R., Shellard A. S., Bedford P., Hell T. B., (1990), *Biochem. Pharmacol.*, 40, 1833-1842.
15. Kumagai H., Suzuki H., Shimazu M., Tochikura T., (1989), *J. Biotechnol.*, 9, 129-138.
16. Kumagai H. S., Tochikura T., (1986), *J. Bacteriol.*, 168, 1325-1331.
17. Lutz W., (1976), *Post. Biochem.*, 22, 387-400.
18. Martensson A. J., Einer S. J., Anld P. A. M., Meister A., (1991), *Proc. Natl. Acad. Sc. USA*, 88 (5), 1913-1917.

19. Martensson A. J., Meister A., (1991), Proc. Natl. Acad. Sc. USA, 88 (11), 4656-4660.
20. Masselot M., de Robichon-Szulmajster H., (1975), Mol. and Gen. Genetics, 154, 23-30.
21. Meister A., Anderson M. E., (1983), Ann. Rev. Biochem., 52, 711-760.
22. Meijer C., Mulder N. H., Hosper P. A. G., Uges A. R. D., de Uries E. G. E., (1990), Br. J. Cancer, 62, 72-77.
23. Moore W. R., Anderson M. E., Meister A., Murata K., Kimura A., (1989), Natl. Acad. Sc. USA, 86 (5), 1461-1464.
24. Mooz E. D., (1979), Biochim. Biophys. Res. Comm., 90, 1221-1228.
25. Murata N., Tani K., Kato T., Chibata J., (1980b), J. Can. Microbiol., 120, 545-547.
26. Murata K., Miya T., Gushima H., Kimura A., (1983), Agric. Biol. Chem., 47, 1381-1383.
27. Murata K., Kimura A., (1982), Appl. Environ. Microbiol., 44, 1444-1449.
28. Ohtake Y., Satou A., Yabuuchi S., (1990), Agric. Biol. Chem., 54, 3145-3150.
29. Penttila E. K., (1990), Biochem. J., 263, 659-660.
30. Peter H. R., Ballard K., Oatis E. J., Jallow J. D., Staurt R., (1990), Cancer Chemother. Pharmacol., 26, 397-402.
31. Rennenberg H., (1982), Phytochemistry, 21, 2771-2781.
32. Schmidt M. G., Konetzka W. A., (1986), Can. J. Microbiol., 32, 825-827.
33. Shimazu H., Araki K., Shioya S., Suga K., (1991), Biotechnol. Bioeng., 38, 196-205.
34. Shoichi I., Ryuichi M., (1989), J. P. 011, 141, 591.
35. Suzuki H., Kumagai H., Tochikura T., (1986), J. Bacteriol., 168, 1325-1331.
36. Suzuki H., Kumagai H., Tochikura T., (1986), J. Bacteriol., 168, 1332-1335.
37. Wanatabe K., Yamano Y., Murata K., Kumura H., (1986), Appl. Microbiol. Biotechnol., 24, 375-378.
38. Wanatabe K., Yamano Y., Murata K., Kumura H., (1986), Nucleic Acid Res., 14, 4393-4400.
39. Wellner V. P., Anderson E. M., Pari N. R., Tensen L. G., Meister A., (1984), Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81, 4732-4735.

Glutathione – possibility of microbial biosynthesis and importance

Summary

This paper reviews possibility of glutathione synthesis by microorganisms and its role in living organisms. Glutathione as a tripeptide containing the -SH and γ -glutamyl bonds appears to be not only an alternative source of cysteine but also participates in various vital physiological processes. This ubiquitous compound is presently in use as a medicament or antidote. Therefore, searching for alternative means of its production besides the known conventional chemical method is important from biotechnological and economical viewpoint. Also, biomass with elevated content of glutathione could be used as dietary supplement to feeds and foods, cellular enrichment, oxidative and reductive processes and so on *in vivo*.

Adres dla korespondencji:

Bohdan Achremowicz, Katedra Technologii Przemysłu Rolno-Spożywczego i Przechowalnictwa, Akademia Rolnicza, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin.