

Über das Verhalten der Lipase in wasserarmen Systemen*

II. Mitteilung: Enzymatische Lipolyse im Bereich extrem niedriger Wasseraktivität**

L. ACKER*** und R. WIESE

Mitteilung aus dem Institut für Lebensmittelchemie der Westfälischen Wilhelms-Universität
in Münster (BRD)

Eingegangen am 26. Juli 1972

Behaviour of Lipase in Systems of Low Water Content

II. Enzymatic Lipolysis in the Range of Extreme Low Water Activity

Summary. In the range of extreme low relative humidity (r. h.) below the B.E.T. point of the sorption-isotherm, there was no enzymatic splitting in between 6 weeks in the system cellulose-lipase-triglyceride using a definite crystalline triglyceride (trilaurin). Under the same conditions, however, a fluid substrate (triolein) with 2 and 5% r.h. was hydrolysed, even if with a strongly decreased speed compared to higher r.h.. In fats, which contain besides the crystalline a fluid phase also, even at very low r.h. a remarkable lipolysis can be expected. For the speed of hydrolysis, the kind of substrate distribution and the compactness of the material in this system also are of importance.

Zusammenfassung. Im Bereich extrem niedriger relativer Luftfeuchtigkeit (r.L.), unterhalb des BET-Punktes der Sorptionsisotherme, wurde im System Cellulose-Lipase-Triglycerid bei Verwendung eines definierten, kristallinen Triglycerids (Trilaurin) innerhalb von 6 Wochen keine enzymatische Spaltung beobachtet. Dagegen wurde unter den gleichen Bedingungen selbst bei 2 und 5% r.L. ein flüssiges Substrat (Triolein) noch hydrolysiert, wenn auch — im Vergleich zu höherer r.L. — mit stark verminderter Geschwindigkeit. Bei Fetten, die neben der kristallinen Phase noch flüssigen Anteil haben, kann man auch bei sehr niedriger r.L. noch mit einer merklichen Lipolyse rechnen. Für die Geschwindigkeit der Hydrolyse spielt auch die Art der Verteilung des Substrats und die Dichte der Packung in diesem System eine Rolle.

Einleitung

Was bisher über den Zusammenhang zwischen Enzymreaktionen in wasserarmen Systemen und deren Wasseraktivität bekannt geworden ist [1, 2], läßt den Schluß zu, daß enzymatische Umsetzungen erst mit nennenswerter Geschwindigkeit einsetzen können, wenn freibewegliches, nicht gebundenes Wasser in diesen Systemen vorliegt. Im Bereich der monomolekularen Adsorption, also unterhalb des BET-Punktes der Sorptionsisotherme, sind daher Enzymreaktionen nicht oder nur mit sehr geringer Geschwindigkeit zu erwarten. Da auch enzymatisch gesteuerte Oxidationen, bei denen das Wasser nicht als Reaktionspartner erscheint, die gleiche Abhängigkeit von der Wasseraktivität zeigen wie enzymatische Hydrolysen [3, 4], muß man annehmen, daß bei Enzymreaktionen in wasserarmem Milieu das Wasser mehr die Bedeutung eines Vehikels als die eines Reaktionspartners hat. Es sorgt dafür, daß Substrat und Enzym zueinander finden; es ermöglicht die Diffusion des Substrates zum Enzym hin. Demnach müßten Enzymreaktionen auch ausgelöst werden können, wenn bei sehr niedriger Wasseraktivität anstelle des Wassers eine andere Flüssigkeit den Transport übernehmen würde. In der Tat vermag bei Lipasen Paraffinöl als Vehikel für Triglyceride zu dienen und damit eine lipatische Spaltung in Gang zu setzen [5]. Wenn ein Substrat in der Lage ist, von sich aus zum Enzym zu diffundieren, weil es flüssig ist wie z. B. Triolein, dann muß eine Lipolyse bereits unterhalb des BET-Punktes der Sorptionsisotherme möglich sein. Für diese Auffassung sprechen die Ergebnisse früherer Untersuchungen.

* Auszug aus der Dissertation von R. Wiese: Über die enzymatische Lipolyse in wasserarmem Milieu und ihre Abhängigkeit von äußeren Faktoren. Univ. Münster 1969.

** I. Mitt.: Lebensmittel-Wiss. + Technol. 5, 181 (1972).

*** Herrn Prof. Dr. Werner Heimann zum 60. Geburtstag gewidmet.

So haben Acker u. Beutler [5] zeigen können, daß flüssige Substrate, wie z. B. Haferöl, in einer Mischung mit lipaseaktivem Haferschrot bereits bei niedriger relativer Luftfeuchte (r.L.) eine Lipolyse erleiden. Selbst bei 15% r.L. wurde eine deutliche Spaltung gemessen. Damit weicht die Lipase in ihrem Verhalten von demjenigen der Phospholipasen [6] und Phosphatasen [7] ab. Offensichtlich sind flüssige Substrate nicht auf die Vermittlung der wäßrigen Phase angewiesen. Bei festen Triglyceriden sollte man daher erwarten, daß sie in lipaseaktiven Gemischen bei Lagerung unter sehr niedriger relativer Luftfeuchte überhaupt nicht gespalten werden, da unter diesen Bedingungen die Voraussetzungen für eine Diffusion des Substrates nicht gegeben sind. Dafür sprechen unsere früheren Ergebnisse [5]. Purr [8] ist allerdings der Auffassung, daß nicht die Diffusion des Substrates zum Enzym, sondern die Hydratisierung des Enzymproteins die wichtigste Voraussetzung für eine enzymatische Fettspaltung ist und daß feste Fette bei extrem niedriger Wasseraktivität noch gespalten werden können.

Diese Ansicht gründet sich auf Untersuchungen, die Purr mit Cocosfetten hohen Schmelzpunktes ausgeführt hat. In diesen Versuchen wurden Cocosfette verschiedenen Härtegrades in geschmolzenem Zustand auf lipaseaktives Trägermaterial aufgebracht. Nach dem Erkalten wurde bei 20° C und unter verschiedener r.L. gelagert. Dabei wurde bei einem Cocoshartfett vom Schmelzpunkt 42/43° C selbst bei einer Lagerung unter 2% r.L., (also weit unterhalb des BET-Punktes der Sorptionsisotherme) noch eine merkliche Spaltung beobachtet. Dieses Ergebnis schien einmal gegen die Annahme zu sprechen, daß bei extrem niedriger r.L. keine enzymatische Reaktion mehr eintreten kann, zum andern schien damit die Auffassung nicht haltbar, daß bei festem Aggregatzustand des Substrates eine Lipolyse praktisch unterbleibt. Zum ersten Punkt bestanden, so weit es sich um flüssige Substrate handelte, keine Divergenzen zu unserer Auffassung. Der zweite Punkt aber sollte im Rahmen dieser Untersuchungen geklärt werden.

Wir studierten daher unter Verwendung *definierter* Triglyceride und unter streng kontrollierten Bedingungen die enzymatische Lipolyse bei sehr niedrigen Wasseraktivitäten. Wir haben dabei bewußt definierte Triglyceride herangezogen, weil wir der Meinung waren, daß bei den Triglyceridgemischen, wie sie Purr in Form von Cocoshartfetten benutzt hat, der Aggregatzustand nicht ganz eindeutig und durchgängig fest gewesen sein kann, d. h. daß kleine Anteile an flüssiger Phase vorgelegen haben können.

Material und Methodik

Enzyme bzw. Enzymträger: Lipase aus Schweinepankreas, Lipase aus *Aspergillus oryzae* (beide Serva, Heidelberg); entfetteter Haferschrot, gewonnen durch Kaltextraktion von geschrotetem Hafer mit Petroläther und vorsichtige Entfernung des Lösungsmittels.

Substrate: Trilaurin (LLL) Fp. 45,5—46,5° C (C. Roth, Karlsruhe); Triolein.

Die Herstellung der Modellmischungen, die Einstellung der relativen Luftfeuchte und die Verfolgung der enzymatischen Lipolyse wurde nach den in der I. Mitt. [9] angegebenen Methoden ausgeführt (vgl. [10]).

Herstellung der Gemische zur Untersuchung des Einflusses der Verteilungsart:

Gemisch 1: Geschmolzenes Trilaurin mit Lipase verrühren. Nach dem Erkalten die erstarrte und pulverisierte Masse in einem Mixerät mit Cellulose vermischen (auf 0,8 g Lipase und 12 g Cellulose kommen 0,64 g, d. h. 5% Trilaurin).

Gemisch 2: 0,8 g Lipase in Wasser suspendieren, mit 12 g Cellulose anrühren, tiefgefrieren und gefriergetrocknen. Dieses Enzym-Präparat anschließend in einem Mixerät mit 0,64 g festem Trilaurin vermischen.

Gemisch 3: 12 g Cellulose wie bei Gemisch 2 beschrieben, mit 0,8 g Lipase imprägnieren. 0,64 g Trilaurin in Petroläther lösen und mit dem Enzympräparat vermischen.

Gemisch 4: 0,64 g in Petroläther gelöstes Trilaurin mit 12 g Cellulose vermischen. Nach Abdunsten des Lösungsmittels 0,8 g Lipase in fester Form zugeben (Homogenisieren in einem Mixerät).

Gemisch 5: 12 g Cellulose, 0,8 g Lipase und 0,64 g Trilaurin in fester Form mit Hilfe eines Mixerätes miteinander gut vermischen.

Bei unseren Versuchen wurde in teilweiser Anlehnung an die Arbeitsweise von Purr [8] so verfahren, daß eine Mischung aus Schimmelpilzlipase und Pankreaslipase in wäßriger Lösung (pH 7,4) mit Cellulose angefeuchtet wurde. Das gefriergetrocknete Cellulose-Lipase-Präparat wurde im Verhältnis 50:35 mit Trilaurin bzw. mit Triolein vermischt. Das Substrat wurde jeweils in Petroläther gelöst und dann mit Cellulose vermischt. Nach Abdunsten des Lösungsmittels wurden die Mischungen zunächst über Nacht in einer Tiefkühltruhe aufbewahrt, um dem festen Triglycerid Gelegenheit zu geben, vollständig auszukristallisieren. Die Lagerung erfolgte bei 25° C und 2, 5, 10, 15, 25, 45 und 65% r.L..

Ergebnisse

Die Ergebnisse sind aus Abb. 1 und 2 zu entnehmen. Man erkennt aus Abb. 1, daß Trilaurin erst von einer r.L. von 25% an merklich gespalten wird, während Triolein bereits bei 2% r.L. angegriffen wird. Wenn man bedenkt, daß in diesem Falle der BET-Punkt zu 21% r.L. für das Triolein-Cellulose-Lipase-Gemisch berechnet wurde, muß man festhalten, daß bei flüssigen Substraten bereits im Bereich der monomolekularen Adsorption eine erhebliche Spaltung eintreten kann, die sich hier auf fast 20% beläuft. Dagegen hatte unter den gleichen Bedingungen das feste Substrat Trilaurin keine Aussicht, vom Enzym angegriffen zu werden. Jedenfalls waren freie Fettsäuren nicht nachweisbar.

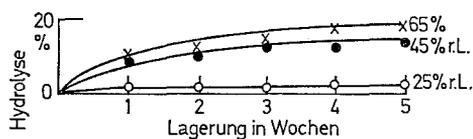


Abb. 1

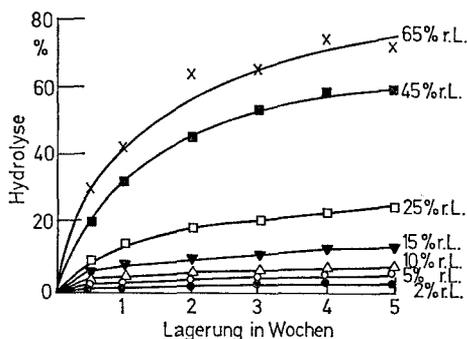


Abb. 2

Abb. 1. Enzymatische Hydrolyse von Trilaurin durch Lipase im Gemisch mit Cellulose bei Lagerung unter 25° C und 2, 5, 10, 15, 25, 45 und 65% rel. Luftfeuchte (die Spaltungskurven bei 2, 5, 10, und 15% r.L. fallen mit der Abszisse zusammen)

Abb. 2. Enzymatische Hydrolyse von Triolein durch Lipase im Gemisch mit Cellulose bei Lagerung unter 25° C und 2, 5, 10, 15, 25, 45 und 65% rel. Luftfeuchte

Einen besseren Überblick über die unterschiedliche Kinetik der Lipolyse der beiden Substrate bei niedrigen relativen Luftfeuchtigkeiten bekommt man, wenn man die Enzymaktivität, gerechnet als Prozent nach einer Woche, gegen die r.L. aufträgt (Abb. 3). Für die Mischung Trilaurin-Cellulose-Lipase ist der BET-Punkt zu 2,3% Wasser und 17% r.L., für die trioleinhaltige Mischung zu 2,4% und 21% r.L. errechnet worden. Die Abb. 3 läßt noch einmal klar erkennen, daß unterhalb des BET-Punktes der Sorptionsisotherme nur bei flüssigen Substraten eine enzymatische Spaltung möglich ist. Daß übrigens bei höherer r.L. bei festen Triglyceriden eine deutliche, wenn auch geringe Spaltung stattfinden kann, zeigt ein weiterer Versuch, bei dem ein in gleicher Weise hergestelltes Gemisch nach 6wöchiger Lagerung bei 2 und 5% r.L. auf eine r.L. von 65% umgestellt wurde. Während bei niedriger r.L. nach 6 Wochen noch keine Lipolyse zu beobachten war, setzte sie nach Umstellung der Proben auf die höhere r.L. nach wenigen Tagen ein (Abb. 4). Dies geht zwar aus Abb. 1 hervor, doch zeigt der Versuch weiterhin, daß eine 6wöchige Lagerung bei niedriger r.L. die Aktivität der Lipase nicht nennenswert reduziert hat.

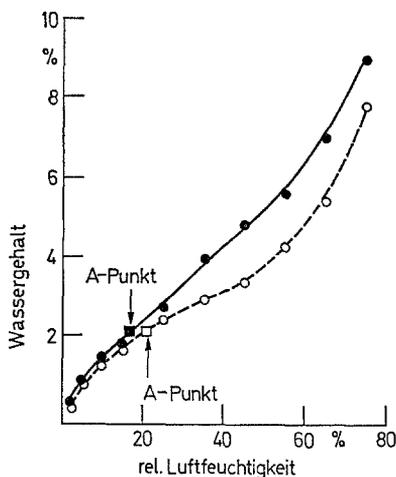


Abb. 3a

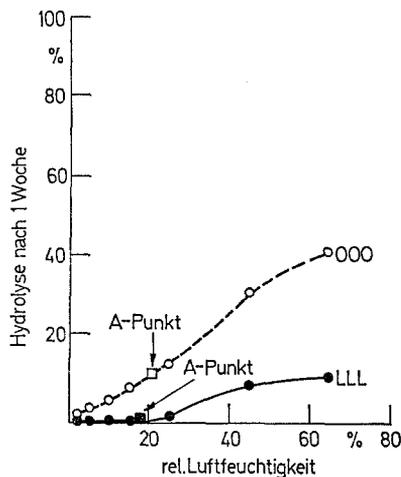


Abb. 3b

Abb. 3a. Sorptionsisothermen einer Mischung aus Cellulose, Lipase und Trilaurin (●—●—●) und einer Mischung aus Cellulose, Lipase und Triolein (○—○—○)

Abb. 3b. Abhängigkeit der enzymatischen Hydrolyse von Trilaurin (LLL) und Triolein (OOO) in den unter a) angeführten Gemischen von der rel. Luftfeuchte (bestimmt als % Hydrolyse nach einwöchiger Lagerung; A-Punkt = BET-Punkt)

Wenn man nach einer Erklärung für die Diskrepanzen zwischen unseren Befunden und den von Purr erhaltenen Ergebnissen sucht, muß man sich folgendes vor Augen halten:

1. Die Untersuchungen von Purr sind sicher sorgfältig ausgeführt. Fehler im analytischen Bereich sind daher auszuschließen.

2. Purr hat den Umfang der Lipolyse an Hand von Säurezahlen verfolgt. Rechnet man diese Werte auf Hydrolysegrade um, so ergeben sich nach 30tägiger Lagerung bei 2% r.L. bei einem Cocoshartfett vom Schmelzpunkt 42—43° C 1,0 bzw. 2,7% Hydrolyse. Das sind minimale Spaltungen im Vergleich zu den bei höheren Wasseraktivitäten zu beobachtenden Spaltungsgraden.

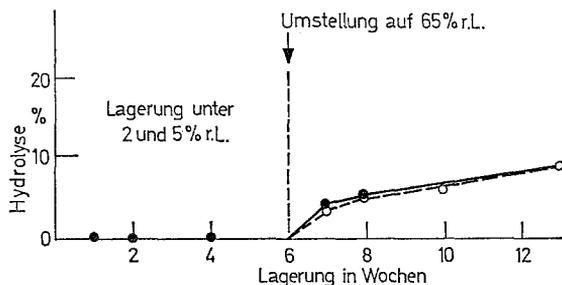


Abb. 4. Enzymatische Hydrolyse von Trilaurin in Gemisch mit Lipase bei Lagerung unter 2 und 5% rel. Luftfeuchte (nach 6 Wochen Umstellung auf 65%) und 25° C

3. Purr hat mit *Gemischen* von Triglyceriden gearbeitet. Bei festen Fetten muß man nach Riedel [11] mit einem gewissen Anteil an flüssiger Phase rechnen, auch bei Temperaturen, die erheblich unter dem Schmelzpunkt dieser Fette liegen. Daß die flüssige Phase in solchen Fetten bevorzugt gespalten wird, haben wir bereits in der 1. Mitt. [9] gezeigt. Wenn der Schmelzpunkt der von Purr verwendeten Hartfette (42—43° C im Extremfall) im Vergleich zur Lagertemperatur von 20° C verhältnismäßig hoch lag, so ist nicht auszuschließen, daß bei 20° eine gewisse, wenn auch kleine Menge an flüssiger Phase vorlag.

4. Purr hat die Mischungen so hergestellt, daß das Enzym mit dem geschmolzenen Substrat verrührt wurde. Damit wird das Enzym bereits vor dem eigentlichen Versuchsbeginn in einen innigen Kontakt zum Substrat gebracht, d. h. die Enzym-Substrat-Zwischenverbindung wird bereits mitgeliefert.

Einfluß der Enzym-Substrat-Verteilung

Daß die Art und Weise, wie das Substrat in einer solchen Modellmischung verteilt ist, von ausschlaggebender Bedeutung in einem solchen System ist, haben wir in einer weiteren Versuchsreihe demonstriert: Pankreaslipase, Trilaurin und Cellulose wurden auf 5 verschiedene Arten miteinander vermischt.

Mischung 1: Trilaurin wird geschmolzen und im flüssigen Zustand mit dem Lipasepräparat verrührt. Nach Erkalten und Erstarren wird dann im Mixerät mit Cellulose vermischt.

Mischung 2: Das in Wasser suspendierte Lipasepräparat wird mit Cellulose verrührt. Nach Gefrieretrocknen wird mit dem festen Trilaurin im Mixerät vermischt.

Mischung 3: Cellulose wird wie bei 2 mit dem Lipasepräparat imprägniert. Trilaurin wird in Petrolätherlösung auf die gefriergetrocknete Mischung aufgebracht.

Mischung 4: Trilaurin wird in Petrolätherlösung auf Cellulose aufgebracht. Nach Verdunsten des Lösungsmittels wird mit dem Lipasepräparat vermischt.

Mischung 5: Die drei Komponenten — Lipasepräparat, Cellulose und Substrat — werden im Mixerät mechanisch miteinander vermengt.

Diese 5 Gemische haben also die gleiche Zusammensetzung, sie unterscheiden sich nur durch die Art der Aufbringung des Enzyms und durch die Art der Verteilung des Substrates. Der Kontakt zwischen Enzym und Substrat wird daher in diesen Mischungen unterschiedlich sein.

Diese Modellsysteme wurden bei höherer r.L., um die Unterschiede deutlicher hervortreten zu lassen, als dies bei niedriger r.L. möglich wäre, nämlich bei 65% und bei 25° C, gelagert.

Der innigste Kontakt zwischen Enzym und Substrat dürfte zweifellos bei der Mischung 1 bestehen. Hier zeigt sich im Verlaufe der Lagerung, wie aus Abb. 5 hervorgeht, die stärkste Spaltung. Bei dieser Art der Vermischung scheinen die Bedingungen für die enzymatische Lipolyse optimal zu sein. Mit einigem Abstand folgt Mischung 4, die sich von 5 nur dadurch unterscheidet, daß das Substrat in Petrolätherlösung zugegeben wurde, während es bei 5 in fester Form zugemischt wurde.

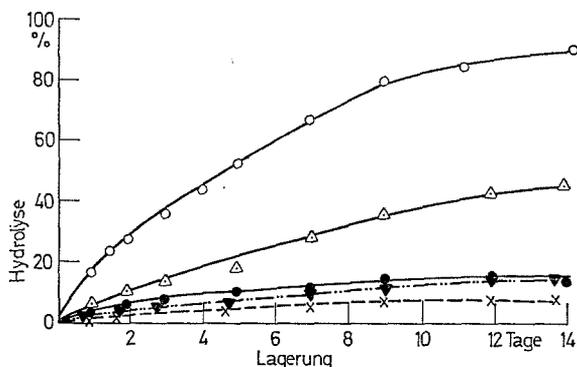


Abb. 5. Enzymatische Hydrolyse von Trilaurin durch Pankreaslipase im Gemisch mit Cellulose bei Lagerung unter 25° C und 65% r.L. in Abhängigkeit von der Art der Vermischung; Gemisch 1: ○—○—○, Gemisch 2: ×—×—×, Gemisch 3: ▼—▼—▼, Gemisch 4: △—△—△, Gemisch 5: ●—●—●

Die Fettspaltung in den Mischungen 2, 3 und 5 ist gering; sie liegt etwa in gleicher Höhe. Den geringsten Betrag erreicht die Lipolyse bei der Mischung 2, bei der die Cellulose mit Lipase imprägniert wurde. Man könnte sich denken, daß durch die Haftung des Enzyms an der Cellulose aktive Zentren abgedeckt werden, so daß die Aktivität reduziert erscheint. Für eine solche Auffassung würden die Unter-

suchungen von Roozen u. Pilnik [12] sprechen. Bei einer Wiederholung der Versuche wurden die gleichen Ergebnisse erhalten.

Nach den Ergebnissen dieser Versuche wird man sagen können, daß der Art der Verteilung des Substrates und der Art des Aufbringens des Substrates eine erhebliche Bedeutung für die Geschwindigkeit der Reaktion zukommt. Da bei den Untersuchungen von Purr [8] die Aufbringung der Triglyceride identisch war mit dem Vorgehen bei Mischung 1, liegt es nahe, zu vermuten, daß die überraschende Fettsplaltung bei Purr mit dieser günstigen Verteilung zusammenhängen muß. Hier wird gewissermaßen die Enzym-Substrat-Zwischenverbindung schon vor Versuchsbeginn hergestellt. Es ist nach diesen Ergebnissen weiterhin anzunehmen, daß alle Maßnahmen, die zu einer Verbesserung des Kontaktes zwischen Enzym und Substrat führen, sich in einer Steigerung der Lipolyse äußern müssen. Infolgedessen sollte auch die Druckbelastung einer Mischung von Einfluß sein.

Einfluß einer Druckbelastung auf die Lipolyse

Zur Untersuchung dieser Frage wurde von einer Mischung 100 g entfettetem, aber noch lipaseaktivem Haferschrot und 10 g Trilaurin die eine Hälfte unter Druck bei 30° C und 45% r.L. gelagert, während die andere Hälfte ohne Druckbelastung, aber unter sonst gleichen Bedingungen aufbewahrt wurde. Die Druckbelastung wurde auf einfache Weise hergestellt: Je 2,5 g des Gemischs wurden in einer Petrischale ausgebreitet und mit einer etwas kleineren, aber seitlich gut einpassenden Petrischale abgedeckt. Auf diese Schale wurde ein 500 g-Gewicht gesetzt.

Das Ergebnis ist der Tab. 1 zu entnehmen: Die enzymatische Hydrolyse eines festen Triglycerids kann demnach durch Druck, d. h. durch dichtere Packung des Enzym-Substrat-Gemisches, beschleunigt werden. Diese Ergebnisse sind für die Lagerung von Trockenprodukten, die lipaseaktives Material, z. B. Getreidemahlprodukte und Fette enthalten, von Bedeutung.

Tabelle 1. Enzymatische Hydrolyse von Trilaurin im Gemisch mit entfettetem Haferschrot bei Lagerung unter 30° C und 45% r.L., mit und ohne Druckbelastung

	Verbrauch an ml n-NaOH/100 g Mischung nach				
	0	2	5	11	18 Tagen
ohne Druck	3,50	3,34	4,56	5,24	6,78
mit Druck	3,50	3,42	5,28	6,74	9,24
	Hydrolyse in % nach				
	0	2	5	11	18 Tagen
ohne Druck	0	0	2,5	4,1	7,6
mit Druck	0	0	4,1	7,5	13,4

Diskussion

Unsere Ergebnisse lassen sich zusammen mit den Befunden von Purr jetzt in folgender Weise einheitlich interpretieren:

Die enzymatische Hydrolyse von Triglyceriden ist bei relativen Luftfeuchtigkeiten unterhalb des BET-Punktes, also im Bereich der monomolekularen Adsorption, selbst bei einer r.L. von 2%, noch möglich, wenn das Substrat in flüssiger Phase vorliegt.

Auch die Untersuchungen von Caillat [13] zeigen, daß in einem Gemisch Weizenkleie-Olivenöl bei sehr niedriger r.L. unter 10% enzymatische Lipolyse stattfinden kann. Feste Triglyceride werden unter diesen Bedingungen nicht gespalten, so weit es sich um einheitliche, definierte, kristalline Verbindungen handelt. Wird das Substrat in Form von natürlichen festen Fetten angeboten, also als Mischung verschiedener Triglyceride, dann kann, so weit Anteile an flüssiger Phase vorhanden sind,

bei sehr niedriger r.L. (z. B. bei 2%) eine Hydrolyse beobachtet werden. Sie wird in der Regel minimal sein. Ihr Umfang wird vom Anteil an flüssiger Phase in diesem Fett abhängen und davon, wie eng der Kontakt zwischen Enzym und Substrat durch den Mischvorgang hergestellt worden ist. Es ist für die Lipolyse in einem wasserarmen Lebensmittel nicht gleichgültig, in welcher Weise das Substrat zugegeben und verteilt worden ist. Bei höherer r.L. können feste Triglyceride hydrolysiert werden, wengleich in einem wesentlich geringeren Ausmaß als flüssige.

Literatur

1. Acker, L.: Z. Ernährungswiss. Suppl. 8, 45 (1969).
2. — Food Technol. 23, 27 (1970).
3. — Huber, L.: Lebensmittel-Wiss. Technol. 2, 82 (1969).
4. — — Lebensmittel-Wiss. Technol. 3, 33 (1970).
5. — Beutler, H.O.: Fette, Seifen, Anstrichmittel 67, 430 (1965).
6. — Fette, Seifen, Anstrichmittel 62, 906 (1960).
7. — Kaiser, H.: Z. Lebensm. Unters.-Forsch. 115, 201 (1961).
8. Purr, A.: Fette, Seifen, Anstrichmittel 68, 145 (1966).
9. Acker, L., Wiese, R.: Lebensmittel-Wiss. Technol. (im Druck).
10. Wiese, R.: Über die enzymatische Lipolyse in wasserarmem Milieu und ihre Abhängigkeit von äußeren Faktoren. Dissertation. Univ. Münster/Westf. 1969.
11. Riedel, L.: Fette, Seifen, Anstrichmittel 57, 778 (1955).
12. Roozen, J.P., Pilnik, W.: Lebensmittel-Wiss. Technol. 4, 93 (1971).
13. Caillat, M.J.-M.: Contribution à l'étude de la lipase du blé: isolement, caractéristiques de son action en milieux aqueux et peu hydraté. Dissertation. Univ. Paris 1970. S. 60.

Professor Dr. L. Acker
 Institut für Lebensmittelchemie
 der Universität Münster
 D-4400 Münster
 Bundesrepublik Deutschland

Zur Bestimmung der Polyphenoloxydaseaktivität in Kartoffelknollen

KLAUS SCHALLER

Mitteilung aus dem Institut für Pflanzenernährung der Technischen Universität
 München in Weihenstephan (BRD)

Eingegangen am 14. August 1972.

On the Determination of Polyphenoloxidase-Activity in Potatoes

Summary. The method of Voigt and Noske for the determination of polyphenoloxidase (PPO) was modified for analysis in potatoes by determining the pH-optimum with pH 5,8 in phosphate buffer and the temperature optimum with 22°C. The PPO was completely inhibited by $5 \cdot 10^{-4}$ mol cystein; the prepared acetone-dried samples can be preserved in the exsiccator for 3 weeks without any loss of activity.

Zusammenfassung. Die von Voigt u. Noske [8, 9] beschriebene Methode zur Bestimmung der Phenoloxydase-Aktivität (PPO) wurde für Kartoffelknollen modifiziert. Hierzu wurden das pH-Optimum mit pH 5,8 in Phosphatpuffer nach McIlvain sowie das Temperaturoptimum mit 22°C ermittelt. Durch $5 \cdot 10^{-4}$ mol Cystein wurde eine totale Hemmung der PPO festgestellt. Die hergestellten Acetontrockenpräparate sind 3 Wochen im Exsiccator bei unveränderter Aktivität haltbar.

Einleitung

Die Polyphenoloxydase (PPO) benutzt als Substrat o-Diphenole (z. B. Kaffeesäure) und Polyphenole (z. B. Chlorogensäure), die zu den entsprechenden o-Chinonen oxydiert werden unter gleichzeitiger Hydroxylierung von Monophenolen.