

INFORMACION

Alteraciones bioquímicas de los lípidos en los alimentos vegetales. II. Metabolismo de los hidroperóxidos lipídicos.

Por R. Zamora. F. J. Hidalgo y M. Alaiz

Instituto de la Grasa y sus Derivados. Avda. Padre García Tejero, 4 - 41012 Sevilla.

RESUMEN

Alteraciones bioquímicas de los lípidos en los alimentos vegetales. II. Metabolismo de los hidroperóxidos lipídicos.

Los enzimas responsables de la degradación enzimática de los lípidos en los alimentos vegetales son examinados en este trabajo. Esta parte describe la descomposición o transformación de los hidroperóxidos lipídicos producida por la lipoxigenasa, hidroperóxido liasa, enal isomerasa, alcohol deshidrogenasa, aldehído deshidrogenasa, hidroperóxido dehidrasa, óxido de aleno ciclasa y ácido 12-Oxofitodienoico reductasa, así como los distintos mecanismos de control de la ruta.

PALABRAS-CLAVE: *Alimento vegetal - Información (artículo) - Lipoxigenasa (ruta) - Oxidación lipídica.*

SUMMARY

Biochemical changes of lipids in plant foods and feeds. II. Lipid hydroperoxides metabolism.

The enzymes of the lipoxigenase pathway in plant foods are reviewed. This part analyzes the enzymes related to the decomposition or transformation of the lipidic hydroperoxides. Lipoxigenase, hydroperoxide lyase, enal isomerase, alcohol dehydrogenase, aldehyde dehydrogenase, hydroperoxide dehydrase, alene oxide cyclase and 12-Oxo-phytyldienoic acid reductase in plants are described. Possible control mechanisms of the lipoxigenase pathway are also considered.

KEY-WORDS: *Information (paper) - Lipid oxidation - Lipoxigenase (pathway) - Plant food.*

1. INTRODUCCION

La parte primera de esta revisión (1) describía los enzimas que intervienen en la formación de los hidroperóxidos lipídicos en alimentos, siendo la lipoxigenasa el enzima clave de todo el proceso. Una vez formados estos hidroperóxidos, los mismos son metabolizados por todo un conjunto de enzimas que van a ser el objeto de esta segunda parte. Estos

hidroperóxidos pueden ser también descompuestos mediante una serie de reacciones no enzimáticas, que no serán descritas en este trabajo, y que han sido objeto de recientes revisiones (2-4).

2. LIPOXIGENASA

Aunque los hidroperóxidos formados por acción de la lipoxigenasa son los sustratos de diversos enzimas que serán descritos posteriormente, se ha observado que a menudo la propia lipoxigenasa también puede "catalizar" la degradación de los mismos hidroperóxidos, creyéndose que esta propiedad se debe a la naturaleza redox del hierro en el sitio activo. La forma ferrosa del enzima puede causar una rotura homolítica del hidroperóxido generando un radical alcoxi que espontáneamente es transformado en productos secundarios. Este área de investigación es una de las más extensamente estudiadas hoy día aunque todavía no es totalmente comprendida y muchos de los resultados encontrados son a veces contradictorios.

Los distintos productos formados en estas reacciones van a depender de sí la misma se lleva a cabo en condiciones aeróbicas o anaeróbicas. En la reacción aeróbica se observa la formación de trihidroxi, oxohidroxi, hidroxi, epoxy, hidroxidién y oxodién derivados. La formación aeróbica de oxodienos fue primeramente descrita por Vioque y Holman (5), usando un extracto crudo de lipoxigenasa y posteriormente Axelrod (6) ha obtenido similares resultados con la isoenzima 3 de la lipoxigenasa de soja.

Se conoce muy poco sobre la influencia que estos compuestos tienen en la calidad de los alimentos. Se sabe que los ácidos hidroxi- y trihidroxi-octadecenoicos inducen sabor amargo y varios autores les han atribuido el sabor amargo de los cereales y leguminosas (6,8). Por la misma razón se le han atribuido

igualmente el sabor amargo de la cerveza (9). Asimismo son indirectamente responsables del flavor a viejo de esta misma bebida, que ha sido atribuido al E-2-nonenal, por ser este último compuesto fácilmente generado a partir de los trihidroxi por calentamiento en condiciones ácidas. Los trihidroxi encontrados en la cerveza son análogos a los obtenidos enzimáticamente a partir del ácido linoléico y harina de cebada, por lo que estos compuestos proceden probablemente de la cebada usada en la manufactura de la misma (9).

Por lo que respecta a los epóxiderivados de los ácidos grasos se sabe que son citotóxicos y mutagénicos (10) aunque su importancia biológica o alimentaria no ha sido evaluada por ahora.

En cuanto a las reacciones anaeróbicas de la lipoxigenasa se sabe que dan lugar a mezclas de productos entre los que se encuentran pentano, oxoácidos, epóxidos y productos diméricos. Estos estudios han sido realizados principalmente con lipoxigenasa de soja (11, 12). Se ha comprobado que el sustrato de estas reacciones es el 13-hidroperóxido y se necesita la presencia del ácido linoleico. Garsen (11) demostró que el oxoderivado provenía del hidroperóxido y no del ácido linoleico. Cuando la concentración de lipoxigenasa es muy elevada tanto el 9- como el 13-hidroperóxido son degradados anaerómicamente en ausencia del ácido linoleico (13). No obstante, la presencia de este ácido estimula la degradación del 13-hidroperóxido unas 1500 veces mientras que no afecta la degradación del 9-. Presumiblemente esto puede ser debido a que el ácido linoleico actúa como un donador de electrones al hierro del sitio activo. En ausencia de ácido linoleico debe operar otro donador de electrones, quizás por un mecanismo análogo al propuesto por Verhagen *et al.* (13) donde es el propio hidroperóxido el que dona los electrones produciendo radicales hidroxil e hidroperoxil.

Aparte de la degradación de los hidroperóxidos aeróbica o anaerómicamente, la lipoxigenasa puede provocar la oxidación de otros compuestos por un proceso llamado cooxidación. Ya en 1928 se constató que la harina de soja emblanquecía los carotenoides de la harina de trigo (14). Este fenómeno de oxidación de carotenos era paralelo a la oxidación de los ácidos grasos y tras la purificación de las isoenzimas de la lipoxigenasa se pudo comprobar que era ésta y no otro factor la responsable de la reacción.

La cooxidación requiere la presencia de ambos sustratos, es decir ácido graso y caroteno, y la lipoxigenasa, y esta última no puede ser reemplazada por el hidroperóxido. Hoy en día se conocen evidencias que sugieren que la lipoxigenasa media la cooxidación mediante un proceso de radicales libres (15).

Esta cooxidación de la lipoxigenasa también puede tener lugar sobre la clorofila provocando su emblan-

quecimiento en un proceso cuyas repercusiones sobre la calidad de los alimentos aún está por estudiar (16).

A pesar de la evidente importancia de todas las reacciones anteriormente descritas, la producción de volátiles como consecuencia de la cascada de los ácidos linoleico y linoléico es el campo que ha sido más ampliamente estudiado por su incidencia en el flavor de determinados alimentos ya sean consumidos posteriormente en estado natural o después de su procesado. Los hidroperóxidos producidos por la lipoxigenasa pueden ser asimismo degradados por este enzima, produciendo aldehídos volátiles y otros derivados que contribuyen de una manera muy importante al flavor característico de muchas plantas y frutos.

La degradación del ácido linoleico por la lipoxigenasa (17,18) produce principalmente hexanal, 2,4-decadienal, 2-heptenal, 2-octenal, pentanal y 2,4-nonadienal. Estos mismos volátiles se obtienen siempre independientemente de la pureza del enzima empleado en su formación aunque las proporciones relativas sí dependen mucho de aquel. La lipoxigenasa 1 de soja da principalmente hexanal mientras que la 2 y 3 dan hexanal en una concentración similar a otros aldehídos: (E)-2, (E)-4-decadienal, (E)-2,(Z)-4-decadienal, (E)-2-heptenal, (E)-2-octenal, (E)-2,(E)-4-nonadienal, heptanal, pentilfuranol y pentanal (19).

Cuando la oxidación se lleva a cabo sobre el ácido linoléico el conjunto de compuestos volátiles difiere bastante del obtenido con el ácido linoleico. Un extracto crudo de guisantes produjo (E)-2,(Z)-4-heptadienal, propanal, 2-pentenal, acetaldehído, crotonaldehído y 2-hexenal (17). La lipoxigenasa 1 de soja pura dio por su parte solamente (E)-2,(Z)-4-hexadienal, (E)-2,(Z)-4-heptadienal, (E)-2-pentenal, (E)-2-hexenal, 4,6-nonadienal, 3,5-octadién-2-ona y otros aldehídos minoritarios (20).

El tipo de volátiles producidos y la proporción relativa entre los mismos depende no sólo del ácido de partida sino también de la procedencia de la lipoxigenasa utilizada (21). Esto parece que es debido a la distinta especificidad del enzima.

Muchos trabajos han indicado que la lipoxigenasa cataliza la formación de estos productos mediante la destrucción de los hidroperóxidos via una catálisis pseudoenzimática. La reacción parece ser que transcurre por una vía radicalaria como lo demuestra la cooxidación del ácido oleico a octanal y nonanal durante la cooxidación del ácido linoleico por la lipoxigenasa de guisante (17). Se cree que el hierro presente en el sitio activo del enzima es el responsable de estas reacciones, análogamente a la catálisis del hierro o hemoproteínas que pueden producir volátiles a partir del hidroperóxido (21). Supuestamente la lipoxigenasa opera en un ciclo redox propuesto por Vliengenthart *et al.* (22) y la formación de volátiles vendría dada por la descomposición del radical alcoxi formado en la rotura del hidroperóxido.

3. HIDROPEROXIDO LIASA

Independientemente de la capacidad anteriormente descrita que tiene la lipoxigenasa de transformar sus productos de oxidación, diversos autores han puesto de manifiesto la existencia de una actividad hidropéroxido liasa que es capaz de romper los productos de oxidación de los ácidos linoleico y linoléico dando lugar a compuestos aldehídicos. Como se recoge en la Figura 1 el 13-hidropéroxido de los ácidos linoleico y linoléico es convertido en el co-

respondiente aldehído de 6 átomos de carbono (hexanal o (Z)-3-hexenal, a partir del 13-hidropéroxido de los ácidos linoleico y linoléico, respectivamente); y 12-oxo-(Z)-9-dodecenoico. De los 9-hidropéroxidos de los ácidos linoleico o linoléico se produce el ácido 9-oxononenoico y un aldehído C-9 (el (Z)-3-nonenal o el (Z)-3,(Z)-6-nonadienal, respectivamente). De estos productos de la liasa, los aldehídos β,γ -insaturados se isomerizan fácilmente a aldehídos α,β -insaturados bien enzimáticamente o autocatalíticamente.

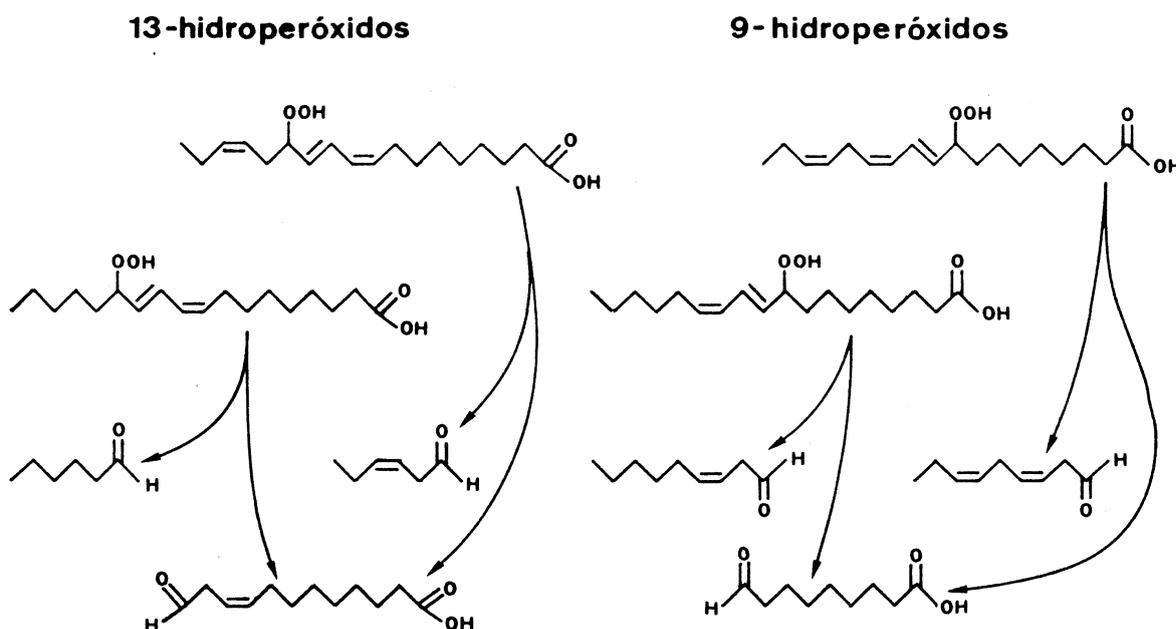


Figura 1

Degradación de los 9- y 13-hidropéroxidos de los ácidos linoleico y linoléico producida por la hidropéroxido liasa.

Aunque la hidropéroxido liasa fue encontrada primero en tejidos no verdes, posteriormente ha sido encontrada también en los tejidos de plantas verdes. La mayoría de los estudios indican que el enzima se encuentra enlazado a membranas. En tejidos verdes el enzima está localizado en los cloroplastos, o más concretamente en las "lamelas" del cloroplasto (23), y en los tejidos no verdes se ha encontrado en el retículo endoplásmico, el aparato de Golgi y la membrana plasmática (24).

En la mayoría de las plantas estudiadas hasta ahora, el 13-hidropéroxido de los ácidos linoleico y linoléico es el sustrato más activo para la hidropéroxido liasa. En otras plantas, como por ejemplo el pepino, el enzima puede utilizar cualquiera de los dos isómeros, el 9- o el 13-, como sustratos (25). En el caso de la pera sólo el 9-hidropéroxido es el sustrato (26). Curiosamente los champiñones tienen una extraña hidropéroxido liasa que utiliza como sustrato sólo el 10(S)-hidropéroxido del ácido linoleico produciendo fragmentos de 8 y 10 átomos de carbono que son el 1-octen-3-ol y el ácido 10-oxo-(E)-8-dece-

noico (Figura 2). El alcohol obtenido, 1-octen-3-ol, es el responsable del flavor característico de los champiñones (27). Es de suponer que los champiñones

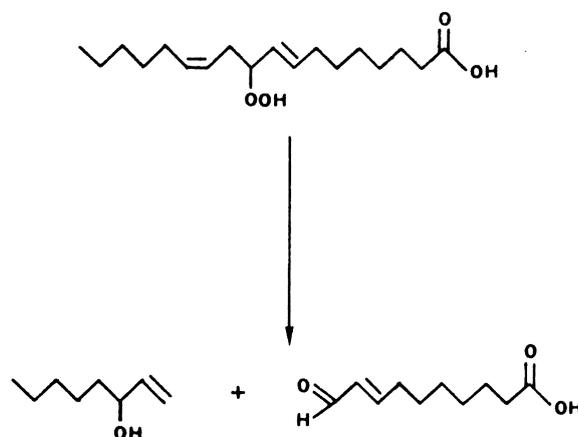


Figura 2

Degradación del 10-hidropéroxido del ácido linoleico producida por la hidropéroxido liasa presente en el champiñón.

5. HIDROPEROXIDO DEHIDRASA

Otra de las transformaciones que pueden sufrir los hidroperóxidos es la isomerización a α - y γ -cetoles que se recoge en la Figura 3 (31). Esta reacción fue descubierta por Zimmerman en 1966 en lino (32) y posteriormente ha sido encontrada en otras especies vegetales como cebada (33, 34), maíz (35), algodón (36), berenjena (37), lechuga (38), avena, (38), espinacas (38), girasol (38) y trigo (38). Estos α - y γ -cetoles pueden ser producidos tanto a partir del 9- como del 13-hidroperóxido y durante mucho tiempo han sido considerados productos de una hipotética hidroperóxido isomerasa (31). Sin embargo, Hamberg (39) recientemente caracterizó un intermediario en la conversión enzimática del 13-hidroperóxido del ácido linoleico en α -cetol. Este compuesto, el ácido 12,13-(S)-epoxi-9(Z),11-octadecadienoico tiene una vida media de aproximadamente 33 s a 0°C y se forma por la pérdida, catalizada por un enzima, de una molécula de agua del hidroperóxido. El enzima responsable de este paso ha sido denominado hidroperóxido dehidrasa (39,40).

Su mecanismo de acción ha sido estudiado y el óxido de aleno formado, a pesar de ser muy inestable, ha sido bien caracterizado (41). Así cuando se partió de hidroperóxidos marcados con ^{18}O en los oxígenos del grupo hidroperóxido y ^2H en las posiciones 9, 10, 12, y 13, y el óxido de aleno formado se atrapó con metanol, se encontró que el producto for-

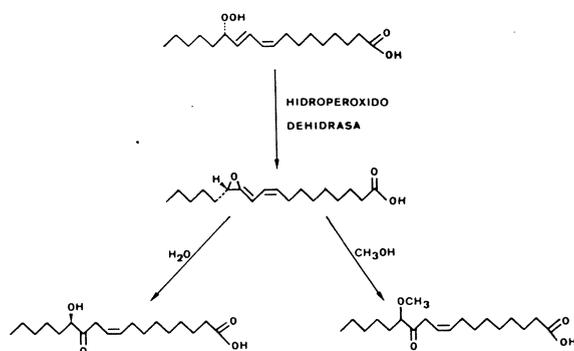


Figura 4

Formación del óxido de aleno a partir del correspondiente hidroperóxido por acción de la hidroperóxido dehidrasa y posterior reacción de este óxido de aleno con metanol y agua, respectivamente.

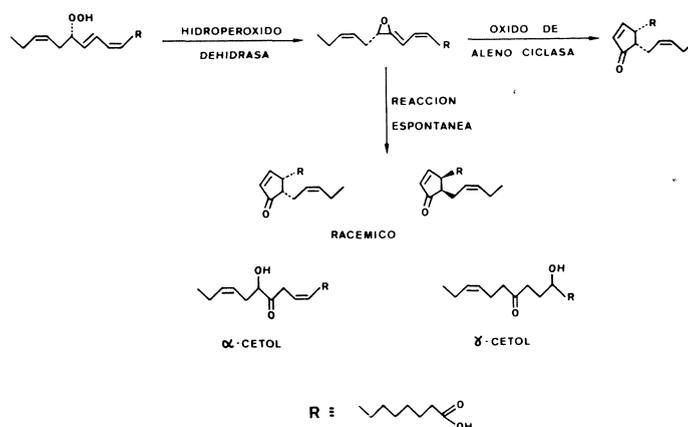


Figura 5

Transformación del 13-hidroperóxido del ácido linoléico en ácido 9(S), 13(S)-12-oxofitodienoico por acción de la óxido de aleno ciclasa y en α - y γ -cetoles por hidrólisis del óxido de aleno intermediario.

6. OXIDO DE ALENO CICLASA

Cuando los óxidos de aleno son estabilizados con albúminas de suero (43) la vida media de estos compuestos sube de 30 segundos a 15 minutos. Esta estabilización es probablemente debida al enlace de los óxidos de aleno a los bolsillos hidrofóbicos de la molécula de albúmina lo que resulta en una protección frente a la hidrólisis que provoca la fase acuosa. En este caso la reacción evoluciona hacia ácidos ciclopentenooctanoicos del tipo de la Figura 5. Compuestos análogos a estos habían sido encontrados con anterioridad por Zimmerman y Feng en 1978 (44) cuando observaron la conversión del ácido α -linolénico en ácido 12-oxo-10,15(Z)-fitodienoico. El paso inicial de la conversión consistía en la formación del 13-hidroperóxido del ácido linolénico. Un enzima denominado hidroperóxido ciclasa fue entonces propuesto para explicar la conversión en la ciclopentanona. Como se verá posteriormente el ácido oxofitodienoico es el precursor del ácido jasmónico (45), un compuesto que ha sido aislado de numerosas plantas y que tiene efectos reguladores del crecimiento (46).

Los óxidos de aleno han sido propuestos como intermediarios en la formación del ácido 12-oxofitodienoico en plantas (44, 47, 48) a causa de la bien establecida conversión química de los óxidos de aleno en ciclopentanonas (49,50) y porque la formación del ácido 12-oxofitodienoico es acompañada de la formación de α -cetoles. Aunque esta reacción puede ser también no enzimática, como ocurre con la formación del ácido 12-oxofitodienoico que se obtiene racémico usando un extracto de lino obtenido por precipitación con acetona (47), muy recientemente ha sido aislado y caracterizado un enzima responsable de la conversión del óxido de aleno en ácido 12-oxofitodienoico. Este enzima ha sido denominado óxido de aleno ciclasa (51,52).

La existencia de este enzima fue sugerida cuando una preparación de homogeneizado de maíz, a diferencia del lino catalizó la formación de un ácido 12-oxofitodienoico que no era racémico sino una mezcla de los enantiómeros 9(S),13(S) y 9(R),13(R) en proporción 82:18 (53). Además, el hecho de que ácido jasmónico ópticamente activo sea sintetizado a partir del ácido 12-oxofitodienoico por plantas (36) sugería que al ácido 12-oxofitodienoico sintetizado en la planta intacta debería ser el enantiómero 9(S),13(S) y no el racémico.

Hamberg encontró que la fracción soluble de un extracto de maíz contenía una proteína de peso molecular 45000 y que tenía actividad de óxido de aleno ciclasa (52). Se comprobó que el sustrato de este enzima era el óxido de aleno y no el 13-hidroperóxido del linoleico o el cetol derivado de dicho óxido de aleno. El producto formado con la misma fue exclusivamente el enantiómero 9(S),13(S) del ácido

12-oxofitodienoico, aunque una cierta proporción de racémico, que varió con las condiciones, también se formaba como consecuencia de reacciones no enzimáticas. La óxido de aleno ciclasa exhibe especificidad de sustrato hacia el óxido de aleno derivado del 13-hidroperóxido del ácido linolénico no sirviendo el derivado del 9-hidroperóxido que produjo una ciclopentanona racémica (52).

Esta óxido de aleno ciclasa ha sido encontrada en distintas plantas, siendo las más ricas en ella la patata, las hojas de espinacas y la col blanca (52).

7. ACIDO 12-OXOFITODIENOICO REDUCTASA

La conversión del ácido 12-oxofitodienoico en ácido jasmónico transcurre en varios pasos (54), siendo el primero de ellos la reducción del doble enlace del anillo de ciclopentenona (Figura 6). Este paso es producido por la ácido 12-oxofitodienoico reductasa (55). Este enzima, que necesita la presencia de un donador de átomos de hidrógeno de los que el NADPH funciona mucho mejor que NADH, tiene un pH óptimo de 6.8-9. El enzima aislado del maíz tiene un peso molecular de aproximadamente 54000. Su baja actividad en comparación con la lipoxigenasa o la hidroperóxido dehidrasa sugieren que este enzima puede ser el paso limitante que determina la cantidad de

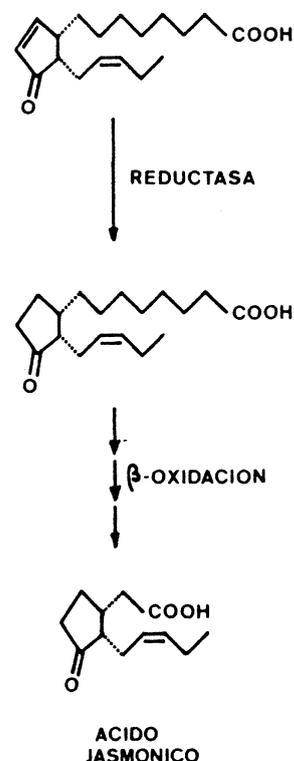


Figura 6

Formación del ácido jasmónico a partir del ácido 12-oxofitodienoico.

ácido 12-oxofitodienoico que es convertido a jasmónico (55).

El ácido 12-oxofitodienoico producido por la ácido 12-oxofitodienoico reductasa sufre entonces tres ciclos de β -oxidación. El producto final, ácido jasmónico, retiene la misma configuración *cis* de las cadenas laterales.

La formación de este ácido jasmónico se ha observado en diversas especies vegetales entre las que se pueden señalar haba, maíz, lino, girasol y trigo entre otras, por lo que parece ser una ruta metabólica general en plantas (31).

8. OTROS PRODUCTOS DEL METABOLISMO DE LOS HIDROPEROXIDOS

Una última reacción de transformación de los hidroperóxidos, de la que es responsable un sistema enzimático que se ha encontrado exclusivamente en la patata es la formación de los diviniléteres de la Figura 7 que son producidos a partir del 9-hidroperóxido de los ácidos linoleico y linolénico, pero no cuando se parte de los 13-hidroperóxidos o de los ácidos sin oxidar (56). También es importante el pH. Su formación se produce exclusivamente a pH alcalinos. El mecanismo de la reacción es desconocido. Estudios con hidroperóxidos marcados con ^{18}O en los oxígenos del grupo hidroperóxido producen éteres en los que el oxígeno etéreo no está marcado. Estos éteres representan la fracción lipídica principal en homogeneizados de patata a $\text{pH} > 6.5$. Estos éteres vinílicos se pueden degradar posteriormente a compuestos volátiles dando los correspondientes nonenales.

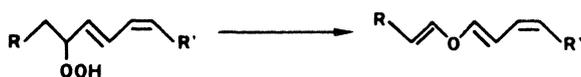


Figura 7

Transformación del 9-hidroperóxido de los ácidos linoleico y linolénico en diviniléteres producida en la patata.

9. MECANISMOS DE CONTROL DE LA RUTA

La degradación de los ácidos grasos poliinsaturados tiene lugar por acción de los diversos enzimas que se han venido describiendo en este trabajo. El intermedio central en este proceso es el hidroperóxido del ácido graso, el cual puede ser dirigido a alguna de las diferentes rutas que se han descrito. La formación de los diversos hidroperóxidos y la posterior transformación de los mismos va a venir determinada en mayor o menor medida por la especificidad de los isoenzimas de la lipoxigenasa y los otros enzimas que contenga la planta. Esto hace, por ejemplo, que la concentración y variedad de volátiles sea tan diferente de una planta a otra.

Así en hojas de té, donde esta ruta ha sido muy estudiada, se ha encontrado que la lipoxigenasa produce mayoritariamente el 13-hidroperóxido y la hidroperóxido liasa transforma este 13-hidroperóxido (57). Esto produce los hexanales y hexenales encontrados en hojas maceradas que son las que le dan el olor herbáceo. Al igual que en hojas de té, los principales productos de rotura en el tomate son compuestos C_6 . Al (Z)-3-hexenal se atribuye principalmente el aroma del tomate fresco (58) y es producido tras la oxidación del ácido linoleico que sigue a la maceración de los tomates. Por su parte las notas frescas del pepino o las violetas son debidas a compuestos volátiles C_9 siendo el 2,6-nonadienal el responsable principal.

Aparte de esta especificidad de los enzimas, la proporción final de volátiles va a depender de inhibidores naturales que se han encontrado para los diversos enzimas descritos, principalmente para los más estudiados lipoxigenasa e hidroperóxido liasa, y que podrían actuar como un cierto mecanismo de control en la ruta. La formación de hexanal a partir de ácido linoleico por la secuencia lipoxigenasa-liasa en inhibida tanto por el ácido linolénico como por el 13-hidroperóxido del mismo ácido (59). Por el contrario la formación del (Z)-3-hexenal no es inhibida por el ácido linoleico o su hidroperóxido. Esto explica que la proporción (Z)-3-hexenal/hexanal en hojas de té sea mucho mayor que la relación ácido linoleico/linolénico. Otros inhibidores son el ácido palmítico, que inhibe la formación de hexanales y hexenales (59), y los monogalactosildiglicéridos, que retardan la formación de hexanal (60). También se ha visto que en semillas de pepino, en alfalfa (61) y en hojas de té la acción de la hidroperóxido liasa sobre el 13-hidroperóxido del ácido linoleico fue retardada por el 13-hidroperóxido del ácido linolénico aunque no por el ácido linolénico (50). Otros inhibidores de la producción de aldehídos C_6 han sido encontrados en semillas de arroz, cotiledones de judías y semillas de té (62).

Por último, otro factor que también influye es la temperatura. Así por ejemplo, en hojas de té, que es tal vez la planta donde más se ha estudiado esta ruta, se ha visto que la producción de los C_6 es estacional, debido a los cambios que sufren las actividades de la lipoxigenasa y la hidroperóxido liasa a lo largo del año. Estos cambios están a su vez estrechamente relacionados con las temperaturas y las horas de sol. Cuando las temperaturas están por debajo de 10°C la producción de hexanales decae hasta casi desaparecer mientras que entre julio y agosto alcanza su máxima actividad cuando las horas de sol y las temperaturas son máximas. El hecho de que durante todo el año haya actividad liasa mientras que actividad lipoxigenasa no y que esta última tenga su máximo entre julio y agosto indica que la etapa determinante en estos cambios estacionales en la producción de C_6 es la lipoxigenasa (57).

Todos estos datos parecen indicar que las alteraciones bioquímicas de los lípidos en alimentos vegetales empiezan a ser comprendidas y por tanto pueden empezar a ser controladas. Sin embargo, aún quedan muchos puntos oscuros en los que profundizar como puede ser la función fisiológica de los productos originados en la cascada. En el futuro, los avances sobre los análogos a las prostaglandinas y leucotrienos en plantas, los que ya comienzan a ser conocidos como octadecanoides, prometen ser espectaculares.

AGRADECIMIENTO

Este trabajo ha sido financiado en parte por la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología (Proyecto ALI 88-0169) y la Junta de Andalucía (Proyecto 2075). Los autores desean agradecer al Prof. Eduardo Vioque sus valiosas discusiones durante la realización del mismo.

BIBLIOGRAFIA

- Zamora, R.; Hidalgo, F.J., y Alaiz, M.—"Alteraciones bioquímicas de los lípidos en los alimentos vegetales. I. Formación de los hidroperóxidos lipídicos".—*Grasas y Aceites* **42** (1991) 155-162.
- Gardner, H.W.—"Reactions of hydroperoxides.—Products of high molecular weight", en "Autoxidation of Unsaturated Lipids", pp. 51-93.—Chan, H.W.S. (Ed.), Academic Press, London, 1987.
- Grosch, W.—"Reactions of hydroperoxides.—Products of low molecular weight", en "Autoxidation of Unsaturated Lipids", pp. 95-139.—Chan, H.W.S. (Ed.), Academic Press, London, 1987.
- Frankel, E.N.—"Secondary products of lipid oxidation".—*Chem. Phys. Lipids* **44** (1987) 73-85.
- Vioque, E., y Holman, R.T.—"Characterization of the ketodienes formed in the oxidation of linoleate by lipoxidase".—*Arch. Biochem. Biophys.* **99** (1962) 522-528.
- Axelrod, B.—"Lipoxygenases" en "Food Related Enzymes".—pp. 324-348.—Whitaker, J.R. (Ed.), Adv. Chem. Ser. 136, A.C.S. Washington, D.C., 1974.
- Sessa, D.J.; Gardner, H.W.; Kleiman, R., y Weisleder, D.—"Oxygenated fatty acids constituents of soybean phosphatidylcholines".—*Lipids* **12** (1977) 613-619.
- Moll, C.; Biermann, V., y Grosch, W.—"Occurrence and formation of bitter-tasting trihydroxy fatty acids in soybeans".—*J. Agric. Food Chem.* **27** (1979) 239-243.
- Esterbauer, H., y Schauenstein, E.—"Isomeric trihydroxy-octadecenoic acids in beer: Evidence for their presence and quantitative determination".—*Z. Lebensm. Unters.—Forsch.* **164** (1977) 255-259.
- Fioriti, J.A.; Bentz, A.P., y Sims, R.J.—"The reaction of picric acid with epoxides. I. A colorimetric method".—*J. Am. Oil Chemists' Soc.* **43** (1966) 37-41.
- Garssen, G.J.; Vliegthart, J.F.G., y Boldingh, J.—"The origin and structures of dimeric fatty acids from the anaerobic reaction between soybean lipoxygenase, linoleic acid, and its hydroperoxide".—*Biochem. J.* **130** (1972) 435-442.
- De Groot, J.J.M.C.; Veldink, G.A.; Vliegthart, J.F.G.; Boldingh, J.; Wever, R., y van Gelder, B.F.—"Demonstration by EPR spectroscopy of the functional role of iron in soybean lipoxygenase-1".—*Biochim. Biophys. Acta* **377** (1975) 71-79.
- Verhagen, J.; Bouman, A.A.; Vliegthart, J.F.G., y Boldingh, J.—"Conversion of 9-D- and 13-L-hydroperoxylinoleic acids by soybean lipoxygenase-1 under anaerobic conditions".—*Biochim. Biophys. Acta* **468** (1977) 114-120.
- Bohn, R.M., y Hass, L.W. (1928). Citado en "Chemistry and Methods of Enzymes".—3rd Ed.—pp. 311.—Summer, J.B., y Somers, G.F., (Eds.), Academic Press, New York, 1985.
- Veldink, G.A.; Vliegthart, J.F.G., y Boldingh, J.—"Plant lipoxygenases".—*Prog. Chem. Fats Others Lipids* **15** (1977) 131-136.
- Imamura, M., y Shimizu, S.—"Metabolism of chlorophyll in higher plants. IV. Relationship between fatty acid oxidation and chlorophyll bleaching in plant extracts".—*Plant Cell Physiol.* **15** (1974) 187-190.
- Grosch, W.—"Linoleic and linolenic acids as substrate for enzymatic formation of volatile carbonyl compounds in pea".—*Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **137** (1968) 216-223.
- Grosch, W., y Schwencke, D.—"Soybean lipoxygenase: volatile aldehydes and alcohols from linoleic acid".—*Lebensm.—Wiss. Technol.* **2** (1969) 109-112.
- Fischer, K.H., y Grosch, W.—"Cooxidation of linoleic acid to volatile compounds by lipoxygenase isoenzymes from soya beans".—*Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **165** (1977) 137-139.
- Grosch, W., y Laskawy, G.—"Differences in the amount and range of volatile carbonyl compounds formed by lipoxygenase isoenzymes from soybeans".—*J. Agric. Food Chem.* **23** (1975) 791-794.
- Grosch, W.—"Breakdown of linoleic acid hydroperoxide. Formation of volatile carbonyl compounds".—*Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **160** (1976) 371-375.
- Vliegthart, J.F.G.; Veldink, G.A., y Boldingh, J.—"Recent progress in the study on the mechanism of action of soybean lipoxygenase".—*J. Agric. Food Chem.* **27** (1979) 623-626.
- Hatanaka, A.; Kajiwara, J.; Sekiya, J., e Inouye, S.—"Solubilization and properties of the enzyme-cleaving 13-L-hydroperoxylinoleic acid in tea leaves".—*Phytochemistry* **21** (1982) 13-17.
- Wardale, D.A.; Lambert, E.A., y Galliard, T.—"Localitation of fatty acid hydroperoxide cleavage activity in membranes of cucumber fruit".—*Phytochemistry* **17** (1978) 205-212.
- Galliard, T.; Phillips, D.R., y Reynolds, J.—"The formation of *cis*-3-nonenal, *trans*-2-nonenal and hexanal from linoleic acid hydroperoxide isomers by a hydroperoxide cleavage enzyme system in cucumber (*Cucumis sativus*) fruits".—*Biochim. Biophys. Acta* **441** (1976) 181-192.
- Kim, I.S., y Grosch, W.—"Partial purification and properties of a hydroperoxide lyase from fruits of pear".—*J. Agric. Food Chem.* **29** (1981) 1220-1225.
- Wurzenberger, M., y Grosch, W.—"The formation of 1-octen-3-ol from the 10-hydroperoxide isomer of linoleic acid by a hydroperoxide lyase in mushrooms (*Psalliota bispora*)".—*Biochim. Biophys. Acta* **794** (1984) 25-30.
- Gardner, H.W.—"Flavor and bitter tastes from oxidation of lipids by enzymes" en "Flavor Chemistry of Fats and Oils".—pp. 189-206.—Min, D.B., y Smouse, T.H. (Eds.), American Oil Chemists' Society, 1985.
- Borgeat, P.; Hamberg, M., y Samuelsson, B.—"Transformation of arachidonic acid and homo- γ -linolenic acid by rabbit polymorphonuclear leukocytes: monohydroxy acids from novel lipoxygenases".—*J. Biol. Chem.* **251** (1976) 7816-7820.
- Whitaker, J.R.—"Mechanisms of oxidoreductases important in food component modification" en "Chemical Changes in Food During Processing".—pp. 121-176.—Richardson, T., y Finley, J.M. (Eds.), AVI Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut, 1985.
- Vick, B.A., y Zimmerman, D.C.—"Oxidative systems for modification of fatty acids: the lipoxygenase pathway" en "The Biochemistry of Plants. A Comprehensive Treatise. Lipids: structure and function".—Vol. 9, pp. 53-90.—P.K. Stumpf, y Conn, E.E. (Eds.), Academic Press, Inc. New York, 1987.

32. Zimmerman, D.C.—“A new product of linoleic acid oxidation by a flaxseed enzyme”.—*Biochim. Biophys. Res. Commun.* **23** (1966) 398-402.
33. Yabuuchi, S., y Amaha, M.—“Partial purification and characterization of the linoleate hydroperoxide isomerase from grains of *Hordeum distichum*”.—*Phytochemistry* **15** (1976) 387-390.
34. Lulai, E.C.; Backer, C.W., y Zimmerman, D.C.—“Metabolism of linoleic acid by barley lipoxygenase and hydroperoxide isomerase”.—*Plant Physiol.* **68** (1981) 950-955.
35. Gardner, H.W.—“Sequential enzymes of linoleic acid oxidation in corn germ: lipoxygenase and linoleate hydroperoxide isomerase”.—*J. Lipid Res.* **11** (1970) 311-321.
36. Vick, B.A., y Zimmerman, D.C.—“Lipoxygenase, hydroperoxide isomerase, and hydroperoxide cyclase in young cotton seedlings”.—*Plant Physiol.* **67** (1981) 92-97.
37. Grossman, S.; Bergman, M., y Sofer, Y.—“Purification and partial characterization of eggplant linoleate hydroperoxide isomerase”.—*Biochim. Biophys. Acta* **752** (1983) 65-72.
38. Vick, B.A., y Zimmerman, D.C.—“Distribution of a fatty acid cyclase enzyme system in plants”.—*Plant Physiol.* **64** (1979) 203-205.
39. Hamberg, M.—“Mechanism of corn hydroperoxide isomerase: detection of 12,13(S)-oxido-9(Z),11-octadecadienoic acid”.—*Biochim. Biophys. Acta* **920** (1987) 76-84.
40. Vick, B.A., y Zimmerman, D.C.—“Pathway of fatty acid hydroperoxide metabolism in spinach leaf chloroplasts”.—*Plant Physiol.* **85** (1987) 1073-1078.
41. Brash, A.R.; Baertschi, S.W.; Ingram, C.D., y Harris, T.M.—“Isolation and characterization of natural allene oxides: unstable intermediates in the metabolism of lipid hydroperoxides”.—*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **85** (1988) 3382-3386.
42. Hamberg, M.—“Fatty acids allene oxides”.—*J. Am. Oil Chemists' Soc.* **66** (1989) 1445-1449.
43. Hamberg, M., y Hughes, M.—“Fatty acid allene oxides. III. Albumin-induced cyclization of 12,13(S)-epoxy-9(Z),11-octadecadienoic acid”.—*Lipids* **23** (1988) 469-475.
44. Zimmerman, D.C., y Feng, P.—“Characterization of a prostaglandin like metabolite of linolenic acid produced by a flaxseed extract”.—*Lipids* **13** (1978) 313-316.
45. Vick, B.A., y Zimmerman, D.C.—“The biosynthesis of jasmonic acid: a physiological role for plant lipoxygenase”.—*Biochem. Biophys. Res. Commun.* **111** (1983) 470-477.
46. Sembdner, G., y Klose, C.—“(–)-Jasmonic acid a new phytohormone?”.—*Biol. Rundsch.* **23** (1985) 29-40.
47. Baertschi, S.W.; Ingram, C.D.; Harris, T.M., y Brash, A.R.—“Absolute configuration of *cis*-12-oxophytodienoic acid of flaxseed: implications for the mechanism of biosynthesis from the 13(S)-hydroperoxide of linolenic acid”.—*Biochemistry* **27** (1988) 18-24.
48. Crombie, L., y Morgan, D.O.—“Formation of acyclic α - y γ -ketones and 12-oxophytodienoic acid from linolenic acid 13-hydroperoxide by a flax enzyme preparation. Evidence for a single enzyme leading to a common allene epoxide intermediate”.—*J. Chem. Soc. Chem. Commun.* (1988) 558-560.
49. Grimaldi, J., y Bertrand, M.—“Epoxidation of vinylallenes. Formation of conjugated cyclopentenones”.—*Tetrahedron Lett.* **38** (1969) 3269-3272.
50. Malacria, M., y Roumestant, M.L.—“Vinylallenes. VI. Synthesis of ketones of the jasmonic series”.—*Tetrahedron Lett.* **33** (1977) 2813-2817.
51. Hamberg, M.—“Biosynthesis of 12-oxo-10,15(Z)-phytodienoic acid: identification of an allene oxide cyclase”.—*Biochem. Biophys. Res. Commun.* **156** (1988) 543-550.
52. Hamberg, M., y Fahlstadius, P.—“Allene oxide cyclase: a new enzyme in plant lipid metabolism”.—*Arch. Biochem. Biophys.* **276** (1990) 518-526.
53. Hamberg, M.; Miersch, O., y Sembdner, G.—“Absolute configuration of 12-oxo-10,15(Z)-phytodienoic acid”.—*Lipids* **23** (1988) 521-524.
54. Vick, B.A., y Zimmerman, D.C.—“Biosynthesis of Jasmonic Acid by Several Plant Species”.—*Plant Physiol.* **75** (1984) 458-461.
55. Vick, B.A., y Zimmerman, D.C.—“Characterization of 12-oxo-phytodienoic acid reductase in corn. The jasmonic acid pathway”.—*Plant Physiol.* **80** (1986) 202-205.
56. Galliard, T., y Matthew, J.A.—“Enzymic reactions of fatty acid hydroperoxides in extracts of potato tuber. I. Comparison 9-D- and 13-L-hydroperoxy-octadecadienoic acid as substrates for the formation of a divinyl ether derivative”.—*Biochim. Biophys. Acta* **398** (1975) 1-9.
57. Hatanaka, A.; Kajiwara, T., y Sekiya, J.—“Biosynthetic pathway for C₆-aldehydes formation from linoleic acid in green leaves”.—*Chem. Phys. Lipids* **44** (1987) 341-361.
58. Kazeniak, S.J., y Hall, R.M.—“Flavor chemistry of tomato volatiles”.—*J. Food Sci.* **35** (1970) 519-530.
59. Hatanaka, A.; Sekiya, J., y Kajiwara, T.—“Linolenic acid and its 13-hydroperoxide inhibit hexanal formation from linoleic acid in plant tissues”.—*J. Agric. Food Chem.* **31** (1983) 176-178.
60. Sekiya, J.; Kajiwara, T.; Imoto, M.; Inouye, S., y Hatanaka, A.—“Effect of lipolytic acid hydrolase on the activity for six carbon aldehyde formation in the tea chloroplasts”.—*J. Agric. Food Chem.* **30** (1982) 183-185.
61. Sekiya, J.; Kajiwara, T., y Hatanaka, A.—“Volatile C₆-aldehyde formation via hydroperoxides from C₁₈-unsaturated fatty acids in etiolated alfalfa and cucumber seedlings”.—*Agric. Biol. Chem.* **43** (1979) 969-980.
62. Hatanaka, A.; Sekiya, J.; Kajiwara, T., y Munechika, K.—“Natural inhibitor for volatile C₆-aldehyde formation from C₁₈-unsaturated fatty acids”.—*Agric. Biol. Chem.* **46** (1982) 2705-2710.

(Recibido: Julio 1990)