

3 LIPIDY

Lipidy (z gréckeho *lipos* = tuk) predstavujú pestrú skupinu látok nerozpustných vo vode, ale dobre sa rozpúšťajúcich v nepolárnych rozpúšťadlách (chloroform, éter, benzén). Z hľadiska zložitosti ich rozdeľujeme na:

- **jednoduché**, kam patria *acylglyceroly* (tuky a oleje) a *vosky*,
- **zložené**, kam zaraďujeme polárne lipidy *fosfoacylglyceroly* (fosfatidáty) a *sfgingolipidy*, ako aj *lipoproteíny* (lipid + proteín alebo peptid) a *glykolipidy* (lipid + sacharid).

Lipidy plnia v organizmoch viaceré funkcie, z ktorých najdôležitejšie sú:

1. Zdroj a rezerva energie. V závislosti od človeka, 20 až 60 % všetkých kalórií (Joulov) pochádza z konzumácie tukov a olejov. Tuky a oleje sú najkoncentrovanejšou formou energie v potravinách – produkujú 35 000 - 40 000 Joulov (8 000-9 000 kalórií) energie na gram, čo je viac ako dvojnásobok energie obsiahnutej v 1 grame sacharidov a bielkovín (~ 15 000 Joulov, t.j. 3 700 kalórií). Redukcia príjmu tukov a olejov v strave je preto veľmi efektívnym spôsobom, ako schudnúť. Tuky a oleje robia jedlo chutnejším a sú dôležité v strave kvôli ich pomalému tráveniu. Pomalé štiepenie tukov zabraňuje pocitom hladu počas dlhšej doby, ako po požití stravy bez tukov. Trávenie neprebíha v žalúdku, ale v tenkom čreve. Nadbytočné množstvo jedla v stravovaní sa premieňa v tele na tuk, ktorý slúži ako rezervný zdroj energie.

2. Štruktúrne funkcie. Polárne lipidy sa spontánne orientujú do mono- a dvojvrstiev, čím vytvárajú štruktúrne jadro biomembrán. Polárne lipidy sú tiež nevyhnutné pre prenos podnetov, preto nervové tkanivo obsahuje až 40 % lipidov.

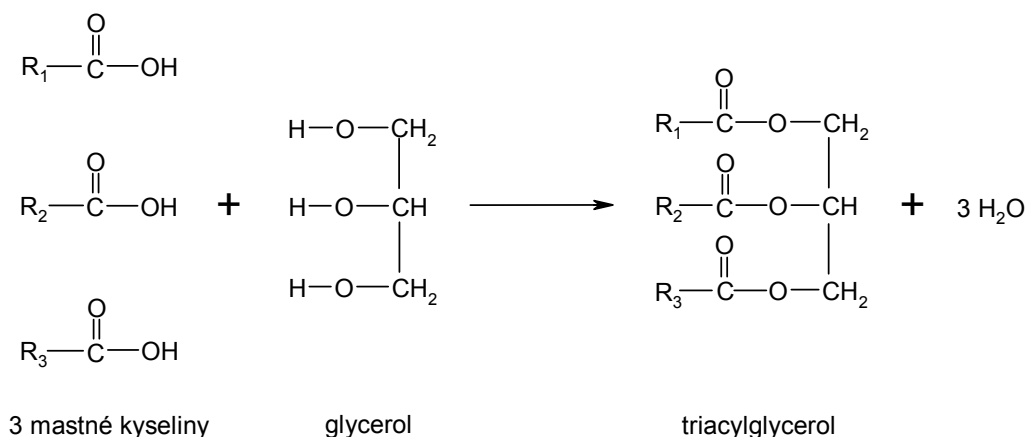
3. Ochranné funkcie. Časť acylglycerolov obaľuje niektoré orgány (napr. obličky) a chráni ich pred mechanickým poškodením. Podkožný tuk funguje ako izolačná bariéra zabraňujúca nadmernej strate tepla do okolia a tiež strate vody. Analogické funkcie plnia aj ochranné vrstvy voskov na listoch, plodoch, perí, srsti, pancieri hmyzu.

Tuky a oleje

Tuky a oleje sú v rôznych formách známe každému z nás, najmä ako súčasť stravy (tuk v mäsovéch a maslo v mliečnych produktoch, margarín, majonéza, dressingy, pečené jedlá obsahujúce olej). Používame mydlá, ktoré sú vyrobené z tukov a olejov, a tiež farby. Vo všeobecnosti sa výrazy "tuk" a "olej" používajú ako synonymá. **Z technického hľadiska však "tuk" označuje tuk v pevnej forme** (zväčša živočíšneho pôvodu), **zatiaľ čo "olej" označuje kvapalný tuk** (predovšetkým z rastlín). Dnes sa pojmom "tuk" označuje celá skupina acylglycerolov, bez ohľadu na konzistenciu.

Niektoré tuky a oleje sú nevyhnutnou súčasťou našej potravy, lebo poskytujú **esenciálne mastné kyseliny** a absorbujú a transportujú v tukoch rozpustné vitamíny A, D, E a K. Špecifická funkcia esenciálnych mastných kyselín nie je stále známa, avšak deti a mláďatá majú spomalený rast v prípade ich nedostatku v strave. Ďalšími symptómami sú riedke vlasy, šupinatá koža, zlé hojenie sa rán.

Chemický charakter tukov a olejov bol prvýkrát študovaný v rokoch 1810-1820 francúzskym chemikom *Michel-Eugene Chevreul*. Zistil, že hydrolýza tukov a olejov vedie k tvorbe mastných kyselín a glycerolu. Tuky a oleje ako estery glycerolu a vyšších mastných kyselín sú často nazývané aj **acylglyceroly** alebo **triacylglyceroly**. Starší názov glyceridy, príp. triglyceridy sa už v súčasnej dobe nepoužíva. Štruktúrny vzťah medzi mastnými kyselinami, glycerolom a triacylglycerolom je zobrazený v nasledujúcej schéme:



* R₁, R₂, R₃ predstavujú reťazce mastných kyselín, najčastejšie rôznych, ale môže ísť aj o jednu a tú istú masťnú kyselinu

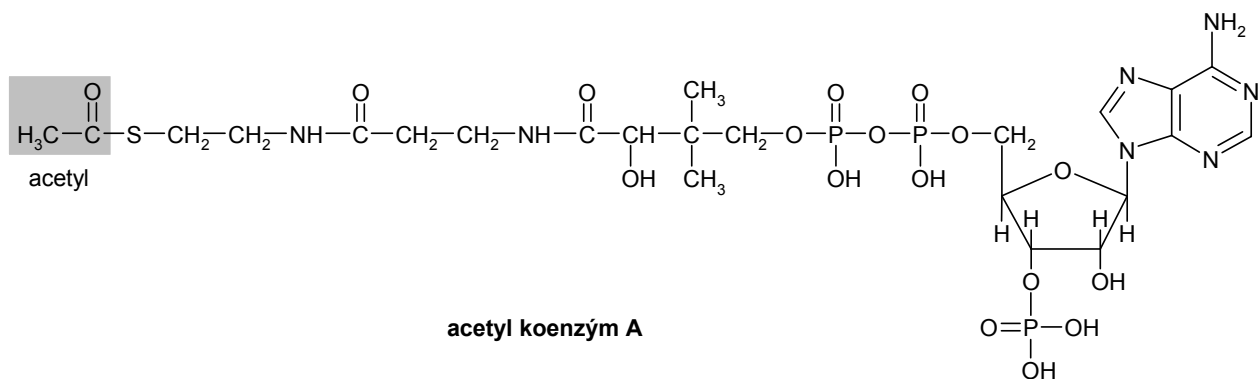
V tukoch a olejoch bolo nájdených viac ako 100 mastných kyselín, dávajúc tak teoreticky možnosť existencie viac ako 500 000 rôznych triacylglycerolov. Väčšina mastných kyselín sa však nachádza v organizme iba v stopových množstvách a iba približne 10 z nich je dôležitou súčasťou triacylglycerolov. Názvy a štruktúry týchto mastných kyselín sú uvedené v **tabuľke 3.1**.

TABUĽKA 3.1 Prehľad bežných mastných kyselín			
Počet C	Názov kyseliny	Štruktúra kyseliny	Poznámky #
C ₁₂	laurová	CH ₃ (CH ₂) ₁₀ COOH	nasýtená
C ₁₄	myristová	CH ₃ (CH ₂) ₁₂ COOH	nasýtená
C ₁₆	palmitová	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ COOH	nasýtená
	palmitolejová	CH ₃ (CH ₂) ₅ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH	nenasýtená: 1 <i>cis</i> -dvojitá väzba (9)
C ₁₈	stearová	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ COOH	nasýtená
	olejová	CH ₃ (CH ₂) ₇ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH	nenasýtená: 1 <i>cis</i> -dvojitá väzba (9)
	ricínolejová	CH ₃ (CH ₂) ₅ CH(OH)CH ₂ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH	obsahuje OH + 1 <i>cis</i> -dvojitú väzbu (9)
	linolová*	CH ₃ (CH ₂) ₄ CH=CHCH ₂ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH	nenasýtená: 2 <i>cis</i> dvojité väzby (9, 12)
	α-linolenová*	CH ₃ CH ₂ CH=CHCH ₂ CH=CHCH ₂ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH	nenasýtená: 3 <i>cis</i> dvojité väzby (9, 12, 15)
	oleostearová	CH ₃ (CH ₂) ₃ CH=CHCH=CHCH=CH(CH ₂) ₇ COOH	nenasýtená: 1 <i>cis</i> a 2 <i>trans</i> dvojité väzby (9, 11, 13)
C ₂₀	arachidónová*	CH ₃ (CH ₂) ₄ (CH=CHCH ₂) ₄ CH ₂ CH ₂ COOH	nenasýtená: 4 <i>cis</i> dvojité väzby (5, 8, 11, 14)

* esenciálne pre človeka

čísla v zátvorke udávajú pozície dvojitých väzieb v mastnej kyseline

Z **tabuľky 3.1** vyplýva, že väčšina bežných mastných kyselín má 12, 14, 16, 18 alebo 20 uhlíkových atómov a že všetky sú vytvorené z nerozvetvených reťazcov. Mastné kyseliny s 12 a 14 uhlíkmi sú nasýtené, zatiaľ čo u mastných kyselín so 16, 18 a 20 uhlíkovými atómami sa často krát vyskytujú aj nenasýtené väzby. Väčšina nenasýtených väzieb (môžu sa vyskytovať až 4 v jednom reťazci) je v *cis* konformácii. Zaujímavý fakt, že tieto mastné kyseliny obsahujú páry počet uhlíkových atómov poukazuje na spôsob ich biosyntézy, a to pridávaním dvojuhlíkového zvyšku pomocou **acetyl koenzýmu A**. Tvorbu dvojitých väzieb zabezpečujú ďalšie enzýmy, a to odstránením vodíkových atómov.



V súčasnosti je všeobecne známy význam "správnych" tukov v zdravej výžive. Vo všeobecnosti, rastlinné tuky sú lepšie ako živočíšne a polynenasýtené tuky sú lepšie, ako nasýtené. Dôvodom je cholesterol, ktorého nadmerné množstvo v krvnom riečisti vedie k **ateroskleróze** – k strate elasticity a zúženiu artérií v dôsledku usadzovania sa cholesterolu. Takáto usadenina môže viesť k výraznému obmedzeniu, príp. prerušeniu toku krvi k životne dôležitým orgánom ako mozog a srdce, a následne spôsobiť mŕtvicu alebo srdcový infarkt.

Rastlinné oleje sú považované za lepšie v porovnaní so živočíšnymi, pretože neobsahujú cholesterol. Avšak niektoré vysokonasýtené tuky, ako palmový olej (obsahuje 36-59 % nasýtených mastných kyselín) a kokosový olej (77-97 % nasýtených mastných kyselín), zvyšujú hladinu cholesterolu v krvi. Ich konzumácia môže mať preto horšie následky pre telo ako konzumácia niektorých živočíšnych tukov. Palmový a kokosový tuk sú lacné, preto sa komerčne využívajú pri výrobe koláčov a iných pečených výrobkov (ekonomika má často prioritu pred zdravou výživou).

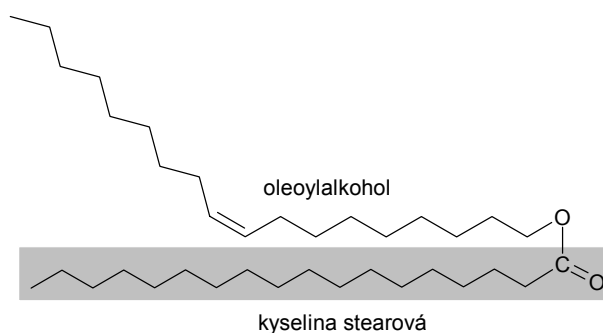
Rastlinné oleje obsahujúce vysoké množstvo polynenasýtených mastných kyselín znižujú hladinu cholesterolu v krvi, zatiaľ čo rastlinné tuky obsahujúce predovšetkým mononenasýtené mastné kyseliny neovplyvňujú, alebo len málo, hladinu cholesterolu.

Tabuľka 3.2 udáva percentuálne zastúpenie mastných kyselín v rôznych typoch živočíšnych a rastlinných tukov. Všimnite si **väčšie množstvo nasýtených mastných kyselín vo väčšine živočíšnych tukov v porovnaní s veľkým množstvom nenasýtených mastných kyselín v rastlinných tukoch**. Rybacie tuky majú vyššiu tendenciu obsahovať viac nenasýtených mastných kyselín, z čoho vyplýva aj ich popularita v zdravej výžive. Vysoké percento mastných kyselín v rybách obsahuje 3 a viac dvojitých väzieb. Na druhej strane, ako bolo spomenuté, kokosový a palmový olej obsahuje vysoký podiel nasýtených mastných kyselín. Kokosový olej obsahuje dokonca vyššie percento nasýtených mastných kyselín, ako všetky uvedené živočíšne tuky. Slnečnicový a sójový olej sú zase výborným zdrojom polynenasýtených mastných kyselín.

TABUĽKA 3.2 Zastúpenie mastných kyselín v niektorých živočíšnych a rastlinných tukoch									
	Nasýtené mastné kyseliny (%)					Nenasýtené mastné kyseliny (%)			
	C ₄ -C ₁₂	Myristová	Palmitová	Stearová	Spolu	Olejová (1 d.v.)	Linolová (2 d.v.)	Linoleová (3 d.v.)	Spolu
Živočíšne									
Hovädzí tuk	1	6	27	14	48	49	2	0	52
Maslo	9-13	7-9	23-26	10-13	43-52	30-40	4-5	0	39-50
Bravčová masť	0	1-2	24-30	12-18	41-50	41-48	10	0	51-58
Treščí olej	0	5-7	8-10	0-1	13-18	27-33	27-32	0	82-88
Sleďový olej	0	5	14	3	22	0	0	30	78
Sardinkový olej	0	6-8	10-16	1-2	17-26	6-10	27-11	8-12	78-85
Rastlinné									
Kokos	55-73	17-20	4-10	1-5	77-97	2-10	0-2	0	3-13
Kukurica	0	0-2	7-11	3-4	10-17	43-50	34-42	0	77-93
Bavlníkové semeno	0	0-3	17-23	1-3	18-29	23-44	34-55	0	71-82
Ľanové semeno	0	0	4-7	2-5	6-12	9-38	3-43	25-58	88-94
Olivy	0	0	5-15	1-4	6-19	69-84	4-12	2	81-94
Palma	0	1-6	32-47	3-6	36-59	38-42	5-11	0	43-58
Arašidy	0	0-1	6-9	2-6	8-15	50-70	13-26	2	85-92
Saflor	0	1	3	4	8	15	76	1	92
Snečnica	0	1	6	5	12	21	66	1	88
Sója	0	0-1	10-13	2-5	12-19	21-29	50-59	2-10	81-88
Tung – čínsky drevný olej	0	0	1-3	1-3	2-6	4-16	0-1	0	94-98

Vosky

Medzi jednoduché lipidy patria okrem acylglycerolov aj **vosky**. Sú to vo vode nerozpustné tuhé estery mastných kyselín s monohydroxylovými alkoholmi s dlhým lineárnym alifatickým reťazcom alebo so sterolmi. Bežnými súčasťami voskov sú cetylalkohol (C₁₆), karnaubylalkohol (C₂₄), cerylalkohol (C₂₆) a myricylalkohol (C₃₀). Príklad molekuly vosku znázorňuje nasledujúci vzorec:



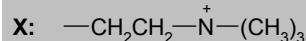
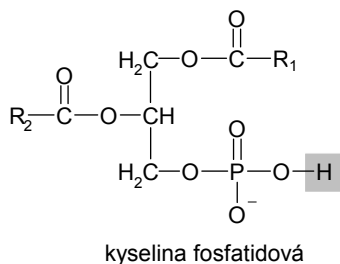
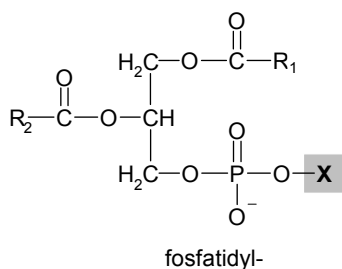
Vosky sú vylučované živočíchmi a rastlinami obvykle ako heterogénne zmesi esterov, často sprevádzané voľnými mastnými kyselinami a ich hydroxyderivátmi alebo vysokomolekulovými nerozvetvenými uhľovodíkmi. V živočíšnych voskoch prevládajú alkoholy so 14 až 18 uhlíkovými atómami, v rastlinných alkoholy s dlhším reťazcom, s 26 až 30 atómami uhlíka.

Vosky majú **ochranné funkcie**. Tvoria hydrofóbnu vrstvu na vonkajších častiach rastlín, listoch a plodoch. Táto vrstva zabraňuje stratám vody, bráni nadmernému zmáčaniu povrchu a chráni pred napadnutím mikroorganizmami. U živočíchov sa vosky vylučujú na koži a srsti a včely ich používajú pri stavbe plástov.

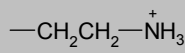
Vosky sú značne hydrofóbné látky, tuhé pri izbovej teplote a mäkké až tekuté pri vyšších teplotách. Vzhľadom na podobné vlastnosti sú aj niektoré minerálne látky nazývané voskami; sú to napr. pevné uhľovodíky (parafínový vosk), extrakt z lignitu (montánny vosk), ozocerit a iné. Tieto produkty, rovnako ako prírodné vosky, sa široko uplatňujú v priemysle. Zo živočíšnych voskov sa v praxi používa hlavne **včelí a spermacetový** vosk (vorvanina) z lebečnej dutiny vorvaňa a **lanolín** (vosk ovčej vlny). Z rastlinných voskov je najpoužívanejším tzv. **karnaubský vosk**, ktorý sa vylučuje v hojnej miere na listoch palmy *Copernicia cerifera*. Má žltú až modrozelenú farbu, je veľmi tvrdý a krehký a topí sa pri 83 až 90 °C. Vosky sa používajú hlavne pri výrobe sviečok, krémov, mydiel a rôznych náplastí.

Fosfoacylglyceroly

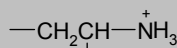
Fosfoacylglyceroly (tiež nazývané fosfatidáty) patria do skupiny polárnych lipidov. Skladajú sa z hydrofóbnou a hydrofilnou časťou, čo určuje ich **amfipatickú (amfifilnú) povahu**. Fosfoacylglyceroly sú súčasťou veľkej skupiny **fosfolipidov**, ktoré sú základnými stavebnými prvkami všetkých biomembrán a niektoré sa zúčastňujú prenosu vzruchu v nervovom tkanive. Vznikajú esterifikáciou zvyšku kyseliny fosforečnej vo fosfatidovej kyseline jedným z nasledujúcich alkoholov alebo aminoalkoholov: cholín, etanolamín, serín, inozitol, glycerol. Hydrofilnú časť týchto zlúčenín tvorí fosfát, hydrofóbnou časťou pozostáva zo zvyškov dvoch mastných kyselín:



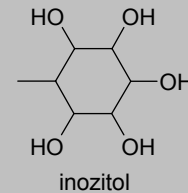
cholín



etanolamín

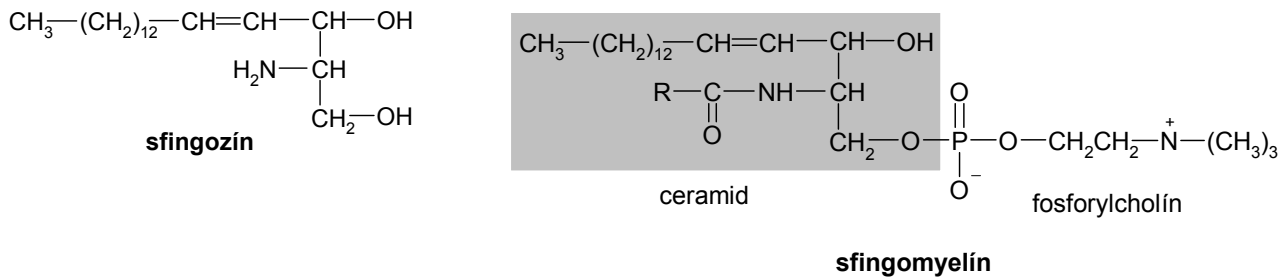


serín



Sfingomyelíny

Podobne ako fosfoacylglyceroly aj sfingomyelíny (tiež nazývané sfingofosfolipidy, ceramid-1-fosforylcholín) patria medzi polárne lipidy, fosfolipidy. Základom tejto skupiny fosfolipidov nie je glycerol, ale dlhý nenasýtený aminoalkohol **sfingozín**. Jeho aminoskupina tvorí amidovú väzbu s mastnou kyselinou (**ceramid**) a primárny hydroxyl je esterifikovaný **fosforylcholínom**:



Sfingomyelíny tvoria dôležité zložky biomembrán a vyskytujú sa hojne v mozgu a nervovom tkanive.

Lipoproteíny

Lipoproteíny vznikajú spojením lipidov so špecifickými bielkovinami, **apolipoproteínmi**. K vzájomnému spojeniu dochádza pomocou hydrofóbných interakcií nepolárnych oblastí oboch zložiek. Výsledkom je, že bielkovina robí hydrofóbne lipidové štruktúry dispergovateľné a stabilné vo vodnom prostredí. Lipidové časti lipoproteínov tvoria najmä triacylglyceroly, ďalej fosfolipidy (lecitíny, sfingomyelíny), voľný a esterifikovaný cholesterol. Triacylglyceroly a estery cholesterolu tvoria lipofilné jadro lipoproteínovej častice. Apolipoproteíny, fosfolipidy a neesterifikovaný cholesterol tvoria jej obal, ktorý je hydrofilný.

Lipoproteíny sú súčasťou bunkových membrán, cytoplazmy buniek, krvnej plazmy a vajčného žltka. Najpreštudovanejšie sú **plazmové lipoproteíny**, ktoré zabezpečujú transport a distribúciu lipidov (vstrebávaných lipidov z potravy, lipidových hormónov a v tukoch rozpustných vitamínov) prostredníctvom krvi a lymfatického systému. Fungujú tiež ako regulátory metabolizmu lipidov.

Na základe zloženia rozdeľujeme lipoproteíny do niekoľkých skupín (**tabuľka 3.3**):

- **chylomikróny**. Tvoria sa v tenkom čreve. Z lipoproteínov sú najväčšie (viditeľné aj pod mikroskopom). Ich primárnou úlohou je transportovať triacylglyceroly z tenkého čreva do pečene.
- **VLDL** (*very low-density lipoproteins*). Vznikajú v pečeni a transportujú triacylglyceroly z pečene do tukových a svalových buniek.
- **IDL** (*intermediate-density lipoproteins*). Obyčajne sú v krvi nedetegovateľné.
- **LDL** (*low-density lipoproteins*). Tie nie sú syntetizované priamo, ale tvoria sa z VLDL. LDL majú zo všetkých lipoproteínov najväčšie zastúpenie cholesterolu a esterov cholesterolu. Podieľajú sa najväčšou mierou na transporte cholesterolu z pečene do buniek.
- **HDL** (*high-density lipoproteins*), ktoré vznikajú primárne v pečeni. "Zbierajú" nadbytočný cholesterol z tkanív a transportujú ho späť do pečene.

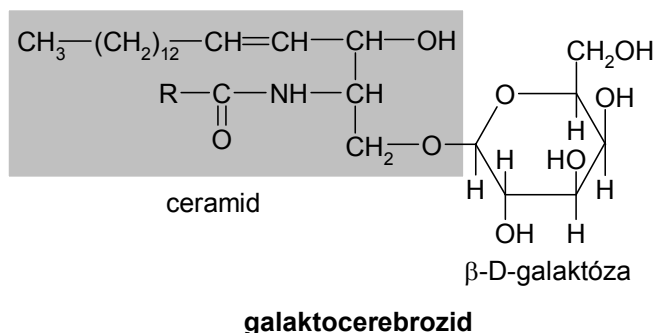
TABUĽKA 3.3 Zloženie a vlastnosti ľudských lipoproteínov

Skupina	Hustota (g/cm ³)	Priemer (nm)	Zloženie (% suchej hmotnosti)			
			proteíny	cholesterol	fosfolipidy	triacylglyceroly
chylomikróny	< 0,95	100-500	1-2	8	7	84
VLDL	0,95-1,006	30-80	10	22	18	50
IDL	1,006-1,019	25-50	18	29	22	31
LDL	1,019-1,063	18-28	25	50	21	4
HDL	1,063-1,21	5-15	33	30	29	8

Glykolipidy

Glykolipidy obsahujú jeden alebo viac monosacharidových zvyškov, ktoré sa viažu glykozidovou väzbou na lipidovú časť. Tá je tvorená buď mono- alebo diacylglycerolom, príp. sfingozínom alebo ceramidom. Neobsahujú kyselinu fosforečnú. Podľa charakteru sacharidovej zložky ich môžeme rozdeliť na dve skupiny:

■ **cerebrozidy**, ktoré obsahujú ceramid s masťou kyselinou alebo hydroxymasťou kyselinou a ako hydrofilnú časť jediný zvyšok monosacharidu viazaného β -glykozidovou väzbou na C-1. Poznáme **galaktocerebrozidy** (obsahuje sacharid D-galaktózu) a **glukocerebrozidy** (obsahuje sacharid D-glukózu).



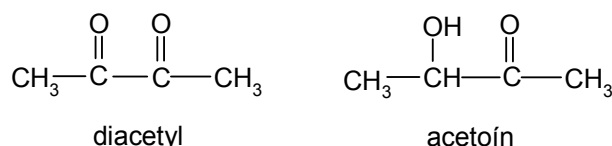
Cerebrozidy tvoria 11 % suchej hmoty mozgu, tiež sú prítomné v nervovom tkanive, týmuse, obličkách, nadobličkách, pľúcach a vaječnom žltku.

■ **glykosfingolipidy**. Predstavujú zložitejšie deriváty ceramidu, v ktorých sa na primárnu alkoholovú skupinu sfingozínu glykozidovou väzbou viaže lineárny alebo vetvený oligosacharidový reťazec. Ten pozostáva z kombinácie galaktózy, glukózy a ich *N*-acetyl aminoderivátov. Často obsahuje aj jeden alebo viac zvyškov sialových kyselín, nesúcich záporný náboj. Tieto kyslé sialylglykosfingolipidy nazývame **gangliozydy**. Vyskytujú sa hlavne v šedej mozgovej kôre. Podieľajú sa tiež na špecificite krvných skupín a na orgánovej a tkanivovej špecificite.

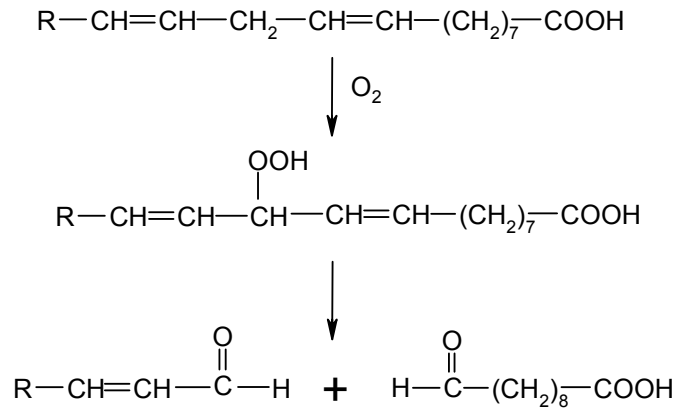
CHEMICKÉ VLASTNOSTI LIPIDOV

Zvyšujúci sa podiel nenasýtených masných kyselín vedie k znižovaniu teploty topenia tukov. Táto závislosť vysvetľuje, prečo sú nenasýtené tuky kvapalné, a väčšina nasýtených tukov tuhé latky.

Margarín sa získava z rastlinných olejov čiastočnou **hydrogenáciou** až do dosiahnutia vhodnej konzistencie. Hoci výsledný produkt nie je zo zdravotného hľadiska až taký hodnotný ako pôvodný olej, je stále oveľa lepší ako maslo alebo masť. Margarín sa mieša s β -karoténom pre získanie vhodnej farby, s mliekom za vzniku emulzie a soľou, diacetylom a acetoínom kvôli chuti:



Niektoré tuky sa môžu pokaziť (stuhnúť) - majú nepríjemnú chuť a zápach, keď sú ponechané pôsobeniu vzduchu a tepla. Jedným z dôvodov ktoré to spôsobujú je, že vlhkosť zo vzduchu má za následok **hydrolýzu** tukov za vzniku nepríjemne zapáchajúcich a chutiacich mastných kyselín, ako napr. kyseliny butylovej z pokazeného masla. Iným dôvodom je **oxi-dácia mastných kyselín** za vzniku hydroperoxidov. Tieto hydroperoxidy sa môžu rozkladať za vzniku nízkomolekulových aldehydov s nepríjemnými dôsledkami na naše chuťové a čuchové bunky:



Vysoko nenasýtené tuky ako napr. z ľanového semena a tungu, v dôsledku pôsobenia vzduchu tvrdnú a vytvárajú priehľadný, hladký povrch (oxidáciou a polymerizáciou dvojitých väzieb). Tieto oleje sa často používajú v priemysle v náteroch a farbách.

Pri charakterizácii tukov a olejov sa používajú dve číselné hodnoty – **číslo zmydelnenia** a **jódové číslo**.

Číslo zmydelnenia je definované ako množstvo miligramov KOH potrebných na kompletnú premenu 1 gramu tuku na glycerol a mydlo. Vysoké číslo zmydelnenia preto indikuje nízkomolekulový tuk. Napríklad kokosový olej má vyššie číslo zmydelnenia ako olivový olej, pretože kokosový olej obsahuje väčšie množstvo nízkomolekulových mastných kyselín.

Jódové číslo je kvantitatívna miera množstva nenasýtených väzieb prítomných v danom tuku. Je definované ako množstvo jódu potrebného saturať 100 gramov tuku. Preto vyššie jódové číslo znamená viac nenasýtený tuk. Jódové číslo môže dosahovať relatívne malé hodnoty, a to 8 až 10 v prípade vysokonasýteného tuku ako kokosový olej, alebo hodnoty 175-205 pre vysokonenasýtený tuk ako napr. z ľanového semena.

IZOLÁCIA A STANOVENIE LIPIDOV

Rastlinné tuky a oleje sa izolujú tromi základnými metódami:

- tlakom za studena,
- tlakom za tepla,
- extrakciou z roztoku.

Pri tlaku za studena sa vytlača olej z rastlín pôsobením hydraulického lisu. Tlak za tepla je principiálne tá istá metóda ako tlak za studena s tým rozdielom, že sa uskutočňuje pri vyššej teplote. Tlak za tepla je efektívnejšia metóda, avšak dáva produkt nižšej kvality v dôsledku prítomnosti nežiaducich zložiek v získanej zmesi. Extrakcia z roztoku je najdrahšia, avšak s najväčším výtťažkom a produktom vysokej kvality.

Živočíšne tuky sa zvyčajne získavajú vyvarením tuku z tkanív pri vysokých teplotách. Alternatívne, tukové tkanivo môže byť vyvarené vo vode. Vyvarený tuk takto vytvorí vrchnú plávajúcu vrstvu a môže byť ľahko separovaný.

Pri mnohých experimentoch je dôležité určiť celkový obsah lipidov v biologickej vzorke. Jednými z najbežnejších metód ako vyextrahovať lipidy z biologického materiálu sú metódy

podľa **Bligha a Dyera** (Bligh, E. G. & Dyer, W. J., 1959, A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* **37**, 911-917) (**tabuľka 3.4**) a metóda podľa **Folcha** (Folch, J., Lees, M. & Stanley, G. H. S., 1957, A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* **226**, 497-509). Obidve metódy sú založené na jednoduchom triku, a to takom, že zmes chloroform/metanol/voda v pomere 1:2:0,8 sú veľmi dobre miešateľné. Takto môžu preniknúť do tkanív a v dôsledku prítomnosti lipofilného chloroformu môžu byť lipidy extrahované. K oddeleniu vodnej a organickej fázy dôjde po zmene uvedeného pomeru na 2:2:1,8 v prípade **Bligh a Dyer** metódy, alebo na 8:4:3 v prípade metódy podľa **Folcha**. Extrahované lipidy sa nachádzajú v organickej fáze, teda v chloroforme.

TABUĽKA 3.4 Bligh & Dyer – extrakcia fosfolipidov

1. Ku vzorke s objemom 0,8 ml pridáme 3 ml zmesi chloroform/metanol 1/2 (v/v). Vortex.
 2. Pridáme 1 ml chloroformu. Vortex.
 3. Pridáme 1 ml 100 mM NaCl. Vortex.
 4. Rozdelenie vrstiev urýchlíme centrifugáciou cca 4 minúty. V spodnej (chloroformovej) vrstve sa nachádzajú extrahované fosfolipidy.
-

Veľmi jednoduchou a rýchlou metódou na kvalitatívnu, ale aj kvantitatívnu (po miernej modifikácii) analýzu fosfolipidov je metóda **chromatografie na tenkej vrstve (TLC plate analysis)**. Chromatografia na tenkej vrstve je jednou z najbežnejších experimentálnych metód na odhadnutie čistoty organických zlúčenín. Čistota zlúčeniny sa určuje na základe množstva zložiek (škvrn) na platničke. TLC metóda sa používa na potvrdenie štruktúry neznámej zlúčeniny na základe porovnania jej pohyblivosti so známou vzorkou. TLC analýza sa často používa na sledovanie postupu chemickej reakcie. TLC využíva tenkú vrstvu práškoveho adsorbentu (zvyčajne SiO₂ alebo Al₂O₃) na pevnom podklade (zvyčajne sklo, hliníková platnička alebo plast). Na elučný profil podklad nemá vplyv. Dôležitý je charakter adsorbentu a vyvíjacej/elučnej zmesi. TLC platnička sa kladie do takmer vertikálnej polohy. Elučná zmes (mobilná fáza) bude na základe kapilárnych síl vzliňať smerom hore. Zlúčenina dobre rozpustná v danej zmesi bude vzliňať s ňou. Naopak zlúčenina slabo rozpustná ostane, resp. sa bude pohybovať pomalšie. Inými slovami, ako ďaleko sa daná zlúčenina dostane závisí na tom, ako silno je adsorbovaná na povrch (stacionárnu fázu) v porovnaní s tým, ako dobre sa rozpúšťa v mobilnej fáze. Určitá zlúčenina na určitom povrchu a v určitej mobilnej fáze je charakterizovaná určitou hodnotou R_f , ktorá určuje vzdialenosť, ktorú daná zlúčenina prešla, delená vzdialenosťou, ktorú prešla mobilná fáza. Na základe súboru vhodných štandardov a porovnania ich mobility s neznámou zlúčeninou môžete odhadnúť vlastnosti tejto látky.

TLC meranie prebieha tak, že na pripravenú TLC platničku sa na jej spodný okraj naniesie vo forme malej (čo najmenšej) škvrny študovaná zlúčenina, resp. zmes látok. Mobilná fáza sa nechá vzliňať, až dosiahne opačný koniec platničky (tento proces prebieha v uzavretej nádobe). TLC platnička sa nechá vyschnúť a na zviditeľnenie zlúčenín sa použije vhodná rozprašovacia metóda s vhodným činidlom.

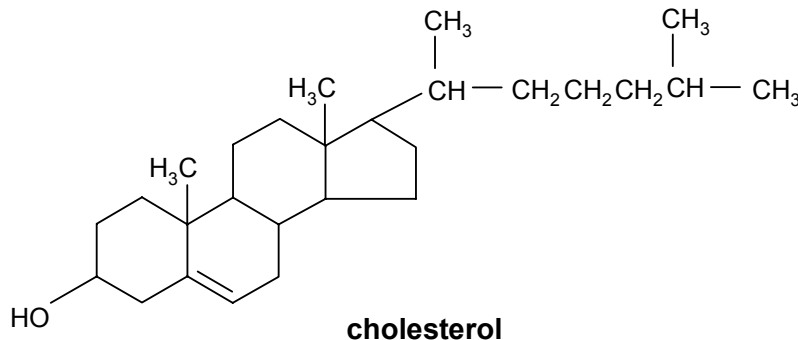
Najbežnejšie **mobilné fázy** na separáciu lipidov sú:

- (i) **chloroform:metanol:voda (65:25:4) (v/v/v)** na separáciu fosfolipidov podľa polarít hlavičky,
- (ii) **chloroform:metanol:hydroxid amónny (65:25:4)** na separáciu fosfolipidov podľa polarít a náboja hlavičky,
- (iii) **chloroform:hexán:metanol:kyselina octová (50:30:10:5)** na separáciu kardiolipínu a fosfatidylglycerolu,
- (iv) **toluén:pyridín:voda (60:60:10)** na separáciu fosfatidylcholínu a fosfatidyletanolamínu,

Cholesterol

Cholesterol je najčastejšie sa vyskytujúci steroid u živočíchov. Nachádza sa vo všetkých tkanivách, s najväčšou koncentráciou v mozgu, mieche a nervoch.

Celkové množstvo cholesterolu u priemerného dospelého človeka je 200-300 g. Kvôli množstvu a všade prítomnosti bol cholesterol izolovaný a charakterizovaný ako prvý steroid. Kvôli relatívne komplikovanej štruktúre prešlo od jeho izolácie v roku 1775 viac ako 150 rokov, kým sa podarilo určiť jeho štruktúru, a to v roku 1932. Keďže cholesterol obsahuje 8 asymetrických centier a môže existovať v 256 stereoizomérnych formách, trvalo ďalších 23 rokov do určenia jeho kompletnej 3D štruktúry.



Cholesterol je všeobecne rozšírený u eukaryotov, ale nevyskytuje sa u väčšiny prokaryotov. V relatívne vysokej koncentrácii sa vyskytuje v každej živočíšnej bunke a tvorí významnú časť jej plazmatickej membrány a moduluje jej tekutosť a permeabilitu (priepustnosť). Vo väčšej miere je prítomný v mozgu (tvorí asi 10 % jeho sušiny), v žlči, krvnej plazme (asi 2 mg/cm³), kde je esterifikovaný nenasýtenými mastnými kyselinami a tvorí súčasť plazmových lipoproteínov, ďalej v nadobličkách, nervovom tkanive, kde je súčasťou myelínových obalov nervových buniek, v mieche, vo vaječnom žltku a v tuku z ovčej vlny. Ľudská koža vylučuje až 300 mg cholesterolu denne ako ochrannú látku. Cholesterol tvorí hlavnú súčasť tzv. nezmydeliteľných podielov živočíšnych tukov. Kľúčový význam cholesterolu je daný tiež tým, že je východnou látkou pre biosyntézu ďalších dôležitých steroidov – žľových kyselín, pohlavných hormónov a kalciferolov.

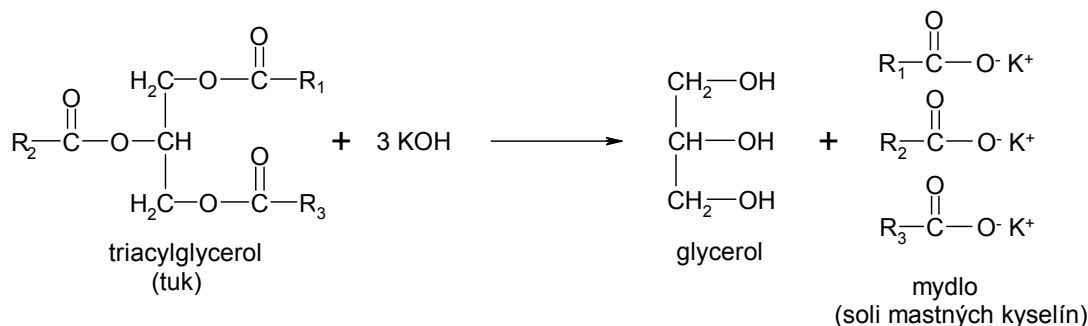
Organizmus kryje časť spotreby cholesterolu príjmom z vonku (potravou), väčšinu však syntetizuje (denne vyrába viac než 1 g cholesterolu). Hladina cholesterolu je udržiavaná poklesom biosyntézy pri jeho príjme v potrave. Cholesterol sa z väčšej časti vylučuje po premenení na žľové kyseliny v pečeni. Nepremenená časť sa odbúrava činnosťou črevných baktérií, redukciou na koprostanol (5-β-cholestan-3-β-ol). Patologicky sa cholesterol ukladá v stenách krvných ciev (**ateroskleróza**) a v žľových kameňoch.

Mydlá a detergenty

Výroba mydla patrí k najstarším známym organickým syntézam, hneď druhá v poradí za výrobou etanolu. Ako prví zvládli výrobu mydla pravdepodobne Féničania v roku 600 pred našim letopočtom a to z kozieho tuku a popola. Mydlo bolo veľmi rozšírené počas Rímskej ríše a ruiny továrne na mydlo staršie viac ako 2000 rokov boli nájdené pri vykopávkach v Pompejach.

Skutočný význam mydla pre umývanie a čistotu bol pravdepodobne uvedený, minimálne zdokumentovaný, až oveľa neskôr, približne v 2. storočí nášho letopočtu. Nasledujúce stovky rokov bolo použitie mydla výrazne obmedzené – pach tela bolo pohodlnejšie prekonávať parfémami.

K "zľudoveniu" mydla došlo až po zdokonalení jeho výroby v roku 1700 *Nicolasom Leblancom*. Výroba mydla predstavuje alkalickú hydrolyzu alebo saponifikáciu tuku alebo oleja, čo vedie k vzniku mydla a glycerolu. Ako bolo spomenuté vyššie, tuk pozostáva zo zmesi organických molekúl – triacylglycerolov – esterov nerozvetvených dlhých mastných kyselín, obsahujúcich 12 až 18 uhlíkových atómov. Mydlo pozostáva zo zmesi soli mastných kyselín, ktoré vznikajú v dôsledku alkalického hydrolyzy triacylglycerolov:

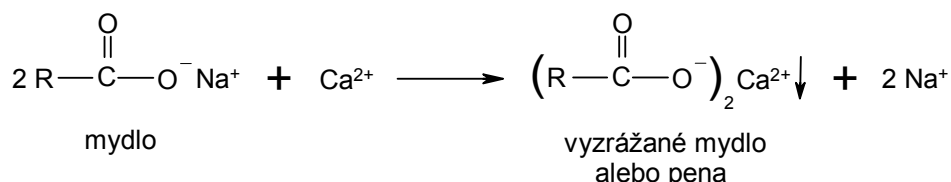


Metóda výroby mydla ostala prakticky nezmenená počas posledných niekoľko stoviek rokov. Mydlá sa môžu líšiť zložením a spôsobom úpravy (prídavky voňavých látok, germicídov, atď.). Pridaný alkohol spôsobuje spriehľadnenie mydla. Ak sa použije namiesto sodíka draslík, mydlo je mäkkšie.

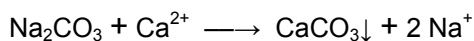
Napriek týmto variáciám, mydlo ostáva z chemického hľadiska rovnaké a čistí tým istým spôsobom. Molekula mydla má **polárnu**, vo vode rozpustnú, "hlavičku" $-\text{COO}^-$, a dlhý **nepolárny**, vo vode nerozpustný, "chvost", pozostávajúci z nepolárnej časti mastnej kyseliny. To im dodáva **amfipatickú povahu** podobne ako v prípade fosfolipidov. Voda a olej majú tendenciu vytvárať separované vrstvy, avšak v prítomnosti mydla dochádza k zmene situácie. Dlhá nepolárna časť molekuly mydla sa rozpustí (interaguje) s olejovými kvapôčkami, zatiaľ čo polárna časť je v styku s vodou. Každá olejová kvapôčka je takto obklopená negatívnym nábojom, ktorý spôsobuje vzájomné odpudzovanie takto vytvorených nabitých sfér, zabraňuje tak vytvoreniu olejovej fázy a stabilizuje olejové kvapôčky vo vode. Keďže olej drží špinu, príp. je časťou špiny, emulzifikácia oleja uvoľní "špinu" a umožňuje jej spláchnutie.

Biodegradabilný charakter mydla je výhodou pre prostredie. Dlhé, lineárne molekuly mydla môžu byť ľahko degradovateľné mikroorganizmami na oxid uhličitý a vodu, nezaťažujú tak prostredie jazier a potokov.

Mydlá majú nižšiu efektívnosť v tvrdej vode, v dôsledku prítomnosti vápnika, magnézia a soli železa, ktoré reagujú s mydlom za vzniku nerozpustných precipitátov, známych ako "kruhy" vo vani, v umývadle. Tieto precipitáty vznikajú v dôsledku nasledujúcej reakcie:



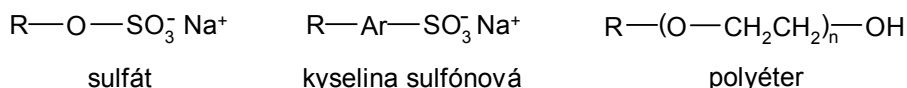
a spôsobujú, že časť mydla ostane nevyužitá vo forme precipitátu, preto je potrebné použiť väčšie množstvo mydla. Tento problém môže byť čiastočne odstránený pridaním zmäkčovadiel ako uhličitan vápenatý, ktorý vyzrážava ióny v tvrdej vode:



Nanešťastie, tieto vyzrážané ióny sa usadzujú v látkach a spôsobujú stratu ich farby.

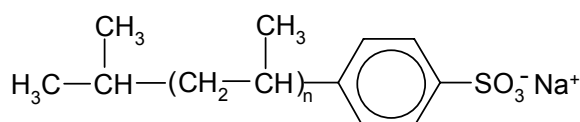
Tento problém nevzniká pri použití detergentov. Syntetické detergenty sa môžu výrazne líšiť v chemickej štruktúre, avšak všetky majú podobnú skladbu: **polárnu, vo vode rozpustnú** hlavičku, zvyčajne obsahujúcu sulfát alebo sulfónovú kyselinu, príp. polyéterovú skupinu a dlhý, **nepolárny** chvost.

Typy syntetických detergentov



Polárna hlavička a dlhý nepolárny chvost pôsobia na špinu tým istým mechanizmom ako mydlo. Avšak vďaka polárnej hlavičke iného charakteru, ktorú obsahujú detergenty, nevytvárajú nerozpustné agregáty v ťažkej vode. Výsledkom je väčšia čistiaca efektívnosť detergentov v ťažkej vode bez potreby pridávania zmäčkovadiel.

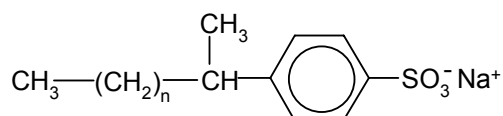
Prvý syntetický detergent bol vyrobený v roku 1916 *Fritzom Guntherom*. Tento produkt sa používal v priemysle, ale nebol použiteľný v domácnostiach. Prvý syntetický, v domácnostiach použiteľný detergent, uviedla na trh firma Procter & Gamble v roku 1933. Tieto produkty však boli relatívne drahé a lacnejší produkt – na báze alkylbenzénsulfonátu – sa dostal na trh až v roku 1950:



rozvetvený alkylbenzénsulfonát

Tento typ detergentu sa stal veľmi populárnym a rýchlo nahradil mydlo ako čistiaci prostriedok. Rozvetvené reťazce v molekule však spôsobili problém, pretože bakteriálne enzýmy v čističkách neboli schopné štiepiť tieto molekuly. Týmto detergentom boli znečistené mnohé jazerá a vodné zdroje, dokonca sa našiel v pitnej vode mnohých miest.

Našťastie, tento problém bol vyriešený náhradou rozvetvených reťazcov za lineárne, čo malo za následok biodegradabilitu detergentu:



lineárny alkylbenzénsulfonát

Použitá literatúra

- Barna K., Paščenko A. Je., Barnová E., Guzy J.: Lekárska chémia a biochémia, 3. prepracované vydanie, Košice 1989.
- Podhradský D., Mihalovová H.: Praktické cvičenie z biochémie, Košice 1989.
- Eaton D.C.: Laboratory investigations in organic chemistry, McGraw-Hill, Inc., New York 1989.
- Stryer L.: Biochemistry, 4th edition, W.H. Freeman and Company, New York 1995.
- Vodrážka Z.: Biochemie, 2nd edition, Academia, Praha 1996.