

## Štruktúrna analýza lipidov. II. Enzýmová deacylácia triacylglycerolov pankreatickou lipázou

ŠTEFAN SCHMIDT – MARTA BYSTRICKÁ

Súhrn. V práci sú opísané podmienky enzýmovej štruktúrnej analýzy pre triacylglyceroly jedlých tukov a olejov. Na špecifickú deacyláciu mastných kyselín z polôh sn-1 a sn-3 TAG molekúl sme použili surovú bravčovú pankreatickú lipázu. Za podmienok vypracovanej metódy sme získali reprezentatívne monoacylglyceroly a diacylglyceroly v časovom rozpätí 90 až 150 sekúnd od kontaktu enzýmu so substrátom – TAG bravčovej masti.

Správnosť metódy bola potvrdená porovnaním zastúpenia MK experimentálne stanovených a vypočítaných štruktúr 1,2 (2,3)-DAG a takisto porovnaním zloženia individuálnych TAG štruktúr (programom TAGST) bravčovej masti s literárnymi údajmi.

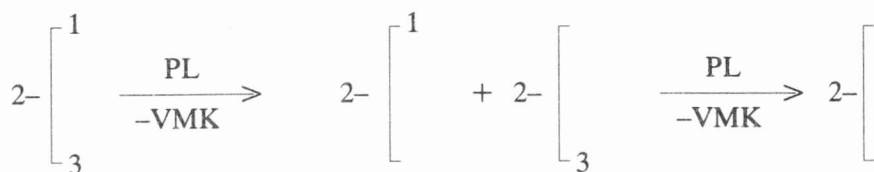
Techniky polohovej analýzy mastných kyselín v triacylglyceroloch sú založené na deacylačných reakciách – enzýmových alebo chemických. Tieto techniky musia poskytovať tzv. reprezentatívne monoacylglyceroly, prípadne aj diacylglyceroly. To znamená, že zloženie mastných kyselín (MK) v získanom sn-2-monoacylglycerole (2-MAG) musí byť zhodné so zložením MK v strednej polohe sn-2 pôvodných štruktúr triacylglycerolových molekúl.

Najpoužívanejšou chemickou deacylačnou metódou je deacylácia Grignardovým činidlom, najčastejšie etylmagnéziumbromidom. Metódu zaviedli už r. 1966 Yurkowski a Bockerhoff [1]. Deacylácia triacylglycerolov (TAG) je nešpecifická, náhodná reakcia.

Enzýmové deacylačné metódy využívajú najmä živočíšnu hydrolázu pankreatickú lipázu (EC 3.1.1.3), ktorá katalyzuje hydrolýzu krajných estero-vých väzieb (polohy sn-1 a sn-3) TAG molekúl za tvorby sn-1,2(2,3)-diacylglycerolov (DAG), sn-2-MAG a voľných mastných kyselín (VMK). Reakčná postupnosť deacylácie triacylglycerolov pankreatickou lipázou (PL) nie je zložitá:

---

Ing. Štefan Schmidt, CSc., Marta Bystrická, Katedra technickej mikrobiológie a biochémie, Chemickotechnologická fakulta SVŠT, Radlinského 9, 812 37 Bratislava.



Lokanty 1, 2 a 3 zodpovedajú masným kyselinám umiestneným v polohách sn-1, sn-2 a sn-3 pôvodných triacylglycerolov. Myšlienka esterovej špecifity pri hydrolýze s PL bola vyslovená prvýkrát r. 1938 a dosiaľ bolo zverejnené množstvo prác zaoberajúcich sa purifikáciou, špecifitou, optimálnymi reakčnými podmienkami a reakčnými produktmi pankreatickej lipázy [2-5]. Okrem PL bola na účely špecifickej hydrolýzy opísaná mliečna lipáza, lipáza z *Geotrichum candidum*, *Rhizopus arrhizus* a iné [6]. Separáciu acylglycerolov po PL hydrolýze (lipolýze) uspokojivo riešia chromatografické techniky, najmä TLC, HPLC alebo najnovšie GLC [7].

Hlavným zámerom tejto práce bolo štandardizovať reakčné podmienky štruktúrnej enzýmovej analýzy triacylglycerolov pankreatickou lipázou, ktoré favorizujú náhodnú deacyláciu polôh sn-1, sn-3 TAG molekúl a tvorbu reprezentatívnych 2-MAG, resp. aj 1,2(2,3)-DAG. Známe zloženie MK parciálnych acylglycerolov umožňuje potom riešiť distribúciu MK v pôvodných TAG molekulách podľa hypotézy 1,3-náhodne-2-náhodne [8]. Aspekty všetkých hypotéz polohovej distribúcie MK v triacylglyceroloch, ako aj výpočtové možnosti určenia štruktúr TAG sú opísané v predchádzajúcej práci [9].

### Materiál a metódy

Použité chemikálie a rozpúšťadlá mali stupeň čistoty p.a. (Lachema, Brno), zo špeciálnych chemikálií sme použili tieto: surovú pankreatickú lipázu od fy Sigma (porcine pancreas) s aktivitou 12 jednotiek na mg preparátu, pričom 1 jednotka zhydrolyzuje 1 mikroekvivalent MK z TAG olivového oleja za 1 h pri 37 °C a pH 7,7 a štandard pre chromatografiu č. 178-6 (monooleín, 1,2(2,3)-dioleín, 1,3-dioleín, trioleín). Ďalej sme použili Kieselgel GF<sub>254</sub> a Tris (hydroxymetyl-aminometán) (Merck).

Na overenie spoľahlivosti metódy a optimálnych reakčných podmienok sme použili rafinovanú bravčovú masť z š. p. Palma. Tento modelový tuk sme pred analýzou purifikovali na čisté TAG metódou preparatívnej adsorpčnej tenkovrstvovej chromatografie na tuzemskom nosoči (silikagél L 5/40 µm, Kavalier). Použili sme rozpúšťadlovú sústavu hexán-dietyléter-kys. octová v objemovom pomere 50:50:0,5 [10]. Zloženie MK použitej bravčovej masti je uvedené v kolónke TAG tabuľky 1.

*Podmienky enzýmovej hydrolýzy TAG.* Vychádzali sme z postupu uvede-  
ného v práci [4], ktorý sme upravili pre 50-miligramovú verziu triacylglycerolov takto: do reakčnej nádoby ( $5\text{ cm}^3$ ) so skrutkovateľným uzáverom sme na-  
vážili 50 mg TAG bravčovej masti a pridali 10 mg pankreatickej lipázy. Ďalej  
sme pridali  $1\text{ cm}^3$  tris konc.  $1\text{ mol.dm}^{-3}$  (pH 8), 22 % vodný roztok  $\text{CaCl}_2$  ( $0,1\text{ cm}^3$ ) a 1 % vodný roztok cholátu sodného ( $0,25\text{ cm}^3$ ). Reakčnú nádobku sme  
temperovali 1 min pri  $40^\circ\text{C}$  a po uzavretí sme jej obsah intenzívne pretrepá-  
vali na upravenom laboratórnom miešadle (MR-25, NDR) pri  $2500\text{ ot.min}^{-1}$ .  
Na konci reakčného času sme obsah nádobky vniesli do oddeľovacieho lievika  
s dietyléterom ( $10\text{ cm}^3$ ) a vodnú vrstvu sme dvakrát vytrepali s  $8\text{ cm}^3$  dietyléte-  
ru. Spojené éterové extrakty sme pretrepali 2 % vodným roztokom  $\text{NaHCO}_3$   
( $5\text{ cm}^3$ ), destilovanou vodou do neutrálnej reakcie (zvyčajne trikrát) a vysušili  
filtráciou cez bezvodný  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Po oddestilovaní rozpúšťadla na vákuovej ro-  
tačnej odparke sme lipolyzovanú vzorku aplikovali priamo na TLC platne.

*Podmienky chromatografie na tenkých vrstvách.* Na oddelenie produktov  
enzýmovej lipolýzy sme použili adsorpčnú chromatografiu na tenkých vrst-  
vách silikagélú (Kieselgel) modifikovaných kys. boritou na zamedzenie acyl-  
migrácie parciálnych acylglycerolov [11]. Tenké vrstvy sme pripravili naliatím  
suspenzie s vodným roztokom  $\text{H}_3\text{BO}_3$  ( $0,65\text{ mol.dm}^{-3}$ ) a po voľnom vysušení  
pred použitím aktivovali 30 min záhrevom pri  $110^\circ\text{C}$ . Zhotovené a nanesené  
TLC platne  $20 \times 20\text{ cm}$  sme vzostupne vyvinuli v rozpúšťadlovej sústave petrol-  
éter-dietyléter-kys. mravčia v obj. pomere 80:20:2. Vyvinuté platne sme de-  
tegovali parami sublimujúceho jódu alebo postrekom s metanolovým, 0,2 %  
roztokom 2,7-dichlórfloresceínu. Pásky separovaných lipidov sme po izolácii  
extrahovali dietyléterom v mikrokolónkach podľa Hilla a kol. [12].

*Podmienky rozdeľovacej plynovej chromatografie.* Separované monoacyl-  
glyceroly (2-MAG), diacylglyceroly (1,2(2,3)-DAG) a pôvodné TAG sme  
derivatizovali v mikroskúmavke na metylestery MK metódou podľa Christop-  
hersona a Glassa [13]. Použili sme plynový chromatograf HP-7620A s pripoje-  
ným plnoautomatickým integrátorom HP-3380 na zápis chromatogramu a je-  
ho kvantitatívne vyhodnotenie. Sklená kolóna ( $200 \times 0,2\text{ cm}$ ) bola naplnená  
nosičom Chromaton N-AW (Lachema, Brno) zrnitosti 0,125-0,16 mm, na  
ktorom bola v množstve 10 % zakotvená stacionárna fáza dietylglykoljantarát  
(Supelco, USA). Prietok nosného plynu  $\text{N}_2$  bol  $15\text{ ml.min}^{-1}$ , teplota kolónové-  
ho priestoru  $180^\circ\text{C}$  a nástrekového priestoru  $250^\circ\text{C}$ .

*Podmienky na výpočet TAG štruktúr.* Polohovú distribúciu MK (X) v mole-  
kulách TAG sme vypočítali podľa vzťahov [1]:

% X v polohe sn-2 = % X v MAG získaných po lipolýze s PL,

% X v polohách sn-1,3 =  $3(\% \text{ X v TAG}) - (\% \text{ X v sn-2})/2$ ,

% X v polohách sn-1,2(2,3) =  $3(\% \text{ X v TAG}) + (\% \text{ X v sn-2})/4$ .

Kvalitatívno-quantitatívne údaje o zastúpení MK získané metódou GLC

sme použili na výpočet percentuálneho obsahu jednotlivých izomérnych štruktúr TAG molekúl podľa Van der Walovej distribučnej hypotézy [8]. Výpočet sme uskutočnili na počítačovom systéme SM 50/50-1 s pružným diskom CM 5605 z radu SMEP (ZVT, Banská Bystrica). Program TAGST (triacylglycerol structure) v jazyku Fortran zostavili Schmidt a Šimon [14].

### Výsledky a diskusia

Triacylglyceroly bravčovej masti (BM) sú výborným substrátom na štandardizáciu deacylačných reakcií. Zastúpenie MK v krajných a stredných polohách TAG bravčovej masti je v literatúre dostatočne opísané, navyše BM je ideálny materiál na testovanie produkcie reprezentatívnych 2-MAG vzhľadom na výrazný rozdiel v obsahu kyseliny palmitovej (16:0) v dvoch uvažovaných polohách TAG molekúl bravčovej masti [15].

Keďže aktivita pankreatickej lipázy zvyčajne kolíše v závislosti od pôvodu, veku, stupňa purifikácie a podmienok skladovania, je nevyhnutné definovať reálne reakčné podmienky pre daný enzým, predovšetkým optimálny čas pôsobenia enzýmu na substrát. Luddy a kol. [4] pôvodne navrhovali interval kontaktu enzýmu so substrátom v rozpätí 45 až 90 sekúnd. Skúšaný živočíšny tuk sme preto podrobili opakovanej lipolýze s PL v rôznych reakčných časoch. Výsledky zastúpenia MK v polohe sn-2 TAG vzorky bravčovej masti sú uvedené v tabuľke 1.

Tabuľka 1. Vplyv reakčného času na deacyláciu triacylglycerolov bravčovej masti pankreatickou lipázou

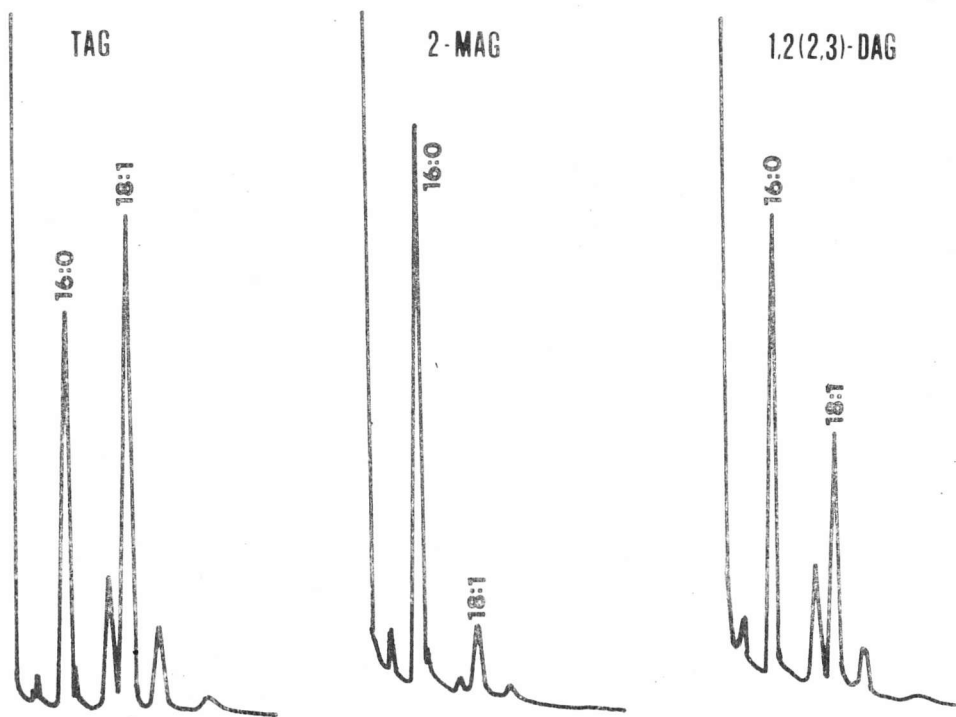
Table 1. Effect of reaction time on the deacylation of lard triacylglycerols by pancreatic lipase

| MK <sup>1</sup> | TAG <sup>2</sup> | Zastúpenie acylov MK v 2-MAG [hm. %] <sup>3</sup> |      |      |       |       |
|-----------------|------------------|---|------|------|-------|-------|
|                 |                  | 45 s  | 60 s | 90 s | 120 s | 150 s |
| 12:0            | 0,1              | 0,4   | 0,3  | 0,3  | 0,2   | 0,3   |
| 14:0            | 1,4              | 1,8   | 3,0  | 4,2  | 4,7   | 4,8   |
| 16:0            | 22,6             | 39,6  | 47,6 | 64,3 | 65,6  | 63,2  |
| 16:1            | 3,0              | 6,8   | 6,0  | 5,1  | 5,4   | 5,3   |
| 18:0            | 12,1             | 12,2  | 8,7  | 3,9  | 3,0   | 2,9   |
| 18:1            | 48,2             | 15,6  | 17,8 | 16,6 | 15,8  | 17,4  |
| 18:2            | 10,3             | 21,7  | 15,6 | 4,8  | 4,5   | 5,1   |
| 18:3            | 2,3              | 1,8   | 1,0  | 0,7  | 0,7   | 0,9   |

12:0 – La (kys. laurová), 14:0 – M (kys. myristová), 16:0 – P (kys. palmitová), 18:0 – St (kys. stearová), 16:1 – Po (kys. palmitolejová), 18:1 – O (kys. olejová), 18:2 – L (kys. linolová), 18:3 – Ln (kys. linolénová).

<sup>1</sup>Fatty acids; <sup>2</sup>Triacylglycerols; <sup>3</sup>Fatty acid composition of 2-MAG [wt.%].

Z údajov uvedených v tabuľke 1 je zrejماً dobrá zhoda zloženia mastných kyselín z 2-MAG v časoch 90, 120 a 150 sekúnd. Vzhľadom na to bol reakčný čas 120 s vybraný v ďalších experimentoch ako základný a optimálny. Vyhodnotenie reprodukovateľnosti a presnosti enzýmovej deacylácie TAG molekúl bravčovej masti za špecifikovaných reakčných podmienok pre  $n = 6$  je zverejnené v predbežnej práci [16]. GLC analýza metylesterov MK uvoľnených zo separovaných acylglycerolov (2-MAG a 1,2(2,3)-DAG) potvrdila literárne poznatky, ktoré uvádzajú vhodnosť najmä frakcie 2-MAG na určenie polohovej distribúcie MK v triacylglyceroloch. Mattson a Volpenhein [17] dokázali viac ako 97 % špecifickosť pankreatickej lipázy na hydrolýzu krajných esterových väzieb (polohy sn-1,3) triacylglycerolov. Akékoľvek uvoľnenie MK z polohy sn-2 je potom príčinou migrácie acylov MK alebo kontaminácie s nešpecifickou lipázou.



Obr. 1. GLC záznam metylesterov mastných kyselín triacylglycerolov a parciálnych acylglycerolov bravčovej masti po lipolyze pankreatickou lipázou.

Fig. 1. Chromatogram of fatty acid methyl esters of lard TAG and partial acylglycerols after the pancreatic lipase hydrolysis.

Tabuľka 2. Zloženie mastných kyselín acylglycerolov bravčovej masti po deacylácii pankreatickou lipázou

Table 2. Fatty acid composition of acylglycerols produced by deacylation of lard triacylglycerols with pancreatic lipase

| MK <sup>1</sup> | TAG <sup>2</sup> | Obsah MK v parciálnych acylglyceroloch [mol. %] <sup>3</sup> |                      |                           |              |
|-----------------|------------------|--|----------------------|---------------------------|--------------|
|                 |                  | 2-MAG <sup>4</sup>   | 1,3-DAG <sup>5</sup> | 1,2(2,3)-DAG <sup>6</sup> | 1,2(2,3)-DAG |
| La              | 0,1              | 0,3  | 0,1                  | 0,2                       | 0,1          |
| M               | 1,7              | 5,3  | -0,2                 | 2,6                       | 2,2          |
| P               | 24,1             | 66,6   | 2,8                  | 34,7                      | 34,4         |
| St              | 11,7             | 2,8  | 16,1                 | 9,4                       | 10,7         |
| Po              | 3,2              | 5,5  | 2,1                  | 3,8                       | 3,5          |
| O               | 46,8             | 14,6   | 63,0                 | 38,8                      | 39,4         |
| L               | 10,1             | 4,2  | 13,0                 | 8,6                       | 7,8          |
| Ln              | 2,3              | 0,7  | 3,1                  | 1,9                       | 1,9          |
| S               | 37,6             | 75,0   | 18,8                 | 46,9                      | 47,4         |
| U               | 62,4             | 25,0   | 81,2                 | 53,1                      | 52,6         |
| PU              | 12,4             | 4,9  | 16,1                 | 10,5                      | 9,7          |

\* Hodnoty vypočítané podľa vzťahov z experimentálnej časti;

Values calculated from the expressions in the experimental part.

S – suma NaMK; Sum of saturated fatty acids. U – suma NeMK; Sum of unsaturated fatty acids.

PU – suma polyneenasýtených MK; Sum of polyunsaturated fatty acids.

<sup>1</sup>Fatty acids; <sup>2</sup>Triacylglycerols; <sup>3</sup>Content of fatty acids in partial acylglycerols [mol.%]; <sup>4</sup>2-Monoacylglycerols; <sup>5</sup>1,3-Diacylglycerols; <sup>6</sup>1,2(2,3)-Diacylglycerols.

V tabuľke 2 sú uvedené súhrnné výsledky stanovenia obsahu MK v jednotlivých acylglyceroloch BM po deacylácii TAG pankreatickou lipázou za optimálnych reakčných podmienok.

Plynovochromatografický záznam MK z triacylglycerolov BM v porovnaní so zložením MK zo štiepných produktov TAG po inkubácii s pankreatickou lipázou je uvedený na obrázku 1.

Výťažky lipidov po lipolýze PL boli určené vážkovo, metódou preparatívnej TLC chromatografie. V poradí vzrastajúcich hodnôt  $R_f$  boli zistené tieto hmotnostné percentá izolovaných lipidov: MAG = 20,1 %, DAG = 18,2 %, VMK = 21,5 % a nezreagované TAG = 40,2 %.

Experimentálne určené zastúpenie MK v 1,2(2,3)-DAG je v dobrej zhode s vypočítanými hodnotami podľa vzťahov uvedených v podmienkach na výpočet TAG štruktúr. Táto zhoda informuje teda aj o produkcii reprezentatívnych 1,2(2,3)-DAG, ktoré sa môžu potom po fosforylácii priamo využiť na stereošpecifickú štruktúrnú analýzu s fosfolipázou A<sub>2</sub> z hadieho jedu. Deacylácia TAG molekúl pankreatickou lipázou na reprezentatívne DAG bola opí-

Tabuľka 3. Zloženie združených štruktúr triacylglycerolov bravčovej masti  
Table 3. Composition of lard triacylglycerols associated

| BM <sup>1</sup> | Združené štruktúry TAG <sup>2</sup> [mol. %] |       |      |      |       |       |
|-----------------|--|-------|------|------|-------|-------|
|                 | SSS  | SSU   | SUS  | UUS  | USU   | UUU   |
| A               | 2  | 20    | 3    | 14   | 40    | 18    |
| B               | 2,4  | 28,6  | 0,1  | 5,1  | 45,5  | 18,3  |
| C               | 2,27   | 22,96 | 0,89 | 7,66 | 49,35 | 16,47 |

A – [20], B – [21], C – vlastné výsledky; Our results.

<sup>1</sup>Pork fat; <sup>2</sup>TAG associated structures.

Tabuľka 4. Zloženie vybraných individuálnych štruktúr bravčovej masti  
Table 4. Composition of selected individual structures of lard triacylglycerols

| Triacylglycerolové štruktúry <sup>1</sup> |    |    |        |  |                  |    |    |        |  |
|---|----|----|--------|--|------------------|----|----|--------|--|
| typ ( $\beta$ -)                          |    |    | mol. % |  | typ ( $\beta$ -) |    |    | mol. % |  |
| P   | P  | O  | 2,32   |  | O                | P  | L  | 10,76  |  |
| Po  | P  | O  | 1,71   |  | O                | P  | Ln | 2,54   |  |
| St  | P  | St | 1,71   |  | O                | Po | O  | 2,14   |  |
| St  | P  | O  | 13,34  |  | O                | St | O  | 1,19   |  |
| St  | P  | L  | 2,76   |  | O                | O  | O  | 6,26   |  |
| St  | Po | O  | 1,10   |  | O                | O  | L  | 2,59   |  |
| St  | O  | O  | 3,21   |  | O                | L  | O  | 1,78   |  |
| O   | M  | O  | 1,86   |  | L                | P  | L  | 1,11   |  |
| O   | P  | O  | 26,01  |  |                  |    |    |        |  |

typ ( $\beta$ -) – zmes dvoch enantiomérov bez špecifikácie rozloženie MK do krajných polôh sn-1 a sn-3 TAG štruktúr: A mixture of enantiomers without specification of the position of fatty acids to sn-1 and sn-3 positions of TAG structures.

<sup>1</sup>Triacylglycerol structures.

saná pri väčšine rastlinných a živočíšnych tukov, ale práve pri bravčovej masti boli zaznamenané aj negatívne výsledky, kým napr. z TAG izolovaných z pečene tresky a tuku tuleňa sa nepodarilo získať reprezentatívne DAG vôbec [18]. Predpokladá sa, že PL prednostne katalyzuje štiepenie esterových väzieb acylov MK s veľmi krátkymi alebo polynenasýteným uhlíkovým reťazcom, takže napr. tuky mliečneho pôvodu a oleje z morských rýb nie sú z analytického hľadiska vhodným substrátom pre pankreatickú lipázu, i keď nedávno Parodi [19] opísal úspešnú štruktúru PL analýzu triacylglycerolov mliečneho tuku.

Aplikáciou programu TAGST na výpočet TAG štruktúr sme vypočítali zjednodušený model triacylglycerolového zloženia bravčovej masti. Pre dve masné kyseliny S (NaMK) a U (NeMK) a bez rozlíšenia optických izomérov možno tak získať 6 kombinácií združených štruktúr TAG. Hodnoty pre SSS, SSU, SUS, UUS, USU a UUU sú uvedené v tabuľke 3 spolu s porovnaním hodnôt z literárnych prameňov [20, 21].

Detailnejší prehľad individuálnych molekulových štruktúr bravčovej masti poskytuje tabuľka 4, v ktorej sú uvedené štruktúry s viac ako 1 % obsahom z celkového zloženia TAG bravčovej masti (program TAGST).

Metóda štruktúrnej analýzy triacylglycerolových lipidov postupom parciálnej deacylácie MK pomocou bravčovej pankreatickej lipázy je veľmi účinná metóda pri zisťovaní štruktúrnych TAG pomerov prírodných jedlých tukov a olejov [22]. V práci uvedený postup metódy a definované reakčné podmienky, ktoré favorizujú náhodnú deacyláciu polôh sn-1 a sn-3 TAG molekúl, treba však v každom prípade overiť vzhľadom na stav, resp. pôvod použitej lipázy. Najvhodnejším substrátom sú TAG bravčovej masti, prípadne kakaového masla. Až po takejto kontrole možno pristúpiť k analýze samých TAG vzoriek a očakávať korektné výsledky. Vypracovaná metóda v spojení s výpočtovou technikou umožňuje relatívne rýchly a presný opis TAG štruktúr na základe Van der Walovej distribučnej hypotézy. Exaktné stanovenie TAG štruktúr jedlých tukov a olejov poskytuje však iba tzv. stereošpecifická štruktúrna analýza, ktorá umožňuje experimentálne priamo stanoviť zastúpenie acylov MK aj v krajných polohách sn-1 a sn-3. Tejto metóde sa budeme venovať v nasledujúcom príspevku.

## Literatúra

- [1] YURKOWSKI, M. – BROCKERHOFF, H., *Biochim. Biophys. Acta*, 125, 1966, s. 55.
- [2] MATTSON, F.H. – BECK, L.N., *J. Biol. Chem.*, 214, 1955, s. 115.
- [3] SAVARY, P. – DESNUELLE, P., *Biochim. Biophys. Acta*, 50, 1961, s. 319.
- [4] LUDDY, F.E. – BARFORD, R.A. – HERB, S.F. – MAGIDMAN, P. – RIEMEN-SCHNEIDER, R.W., *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 41, 1964, s. 693.
- [5] KOMAN, V. – SCHMIDT, Š., Štruktúry lipidov vo vzťahu k ich výživovej hodnote. Výskumná správa. Bratislava, Chemickotechnologická fakulta, SVŠT 1985.
- [6] LITCHFIELD, C.: *Analysis of Triglycerides*. New York – London, 1972.
- [7] MOTTA, L. – BRIANZA, M. – STANGA, F. – AMELOTI, G., *Riv. Ital. Sostanze Grasse*, 60, 1983, s. 625.
- [8] VAN DER WAL, R.J., *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 37, 1960, s. 18.
- [9] SCHMIDT, Š., *Bull. PV*, 27, 1988, s. 75.
- [10] PAN, W.P. – HAMMOND, E.G., *Lipids*, 18, 1983, s. 882.
- [11] KOMAN, V.: *Lipidy – príspevok k štúdiu ich prírodných zmesí a štruktúr*. Habilitačná práca. Bratislava, Chemickotechnologická fakulta SVŠT 1967.



- [12] HILL, E.E. – HUSBANDS, D.R. – LANDS, W.E.M., J. Biol. Chem., 243, 1968, s. 4440.
- [13] CHRISTOPHERSON, S.N. – GLASS, R.L., J. Dairy Sci., 52, 1969, s. 229.
- [14] SCHMIDT, Š. – ŠIMON, P.: Program TAGST – výpočet štruktúr triacylglycerolov (MS).
- [15] PEREDI, J. – SZUNGYI, M. – JERÁNEK, M.: Olaj, Szappan, Kozmetika, 26, 1977, s. 11.
- [16] ILAVSKÁ, E. – SCHMIDT, Š.: Možnosti regulácie a optimalizácie štruktúry lipidov. Výskumná správa. Bratislava, Chemickotechnologická fakulta SVŠT 1987.
- [17] MATTSON, F.H. – VOLPENHEIN, R.A., J. Lipid Res., 9, 1968, s. 79.
- [18] BROCKERHOFF, M., J. Lipid Res., 6, 1965, s. 10.
- [19] PARODI, P.W., J. Dairy Res., 46, 1979, s. 75.
- [20] COENEN, J.W.E., Rev. Fr. Corps Gras, 21, 1974, s. 403.
- [21] BLANK, M.L. – VERDINO, R. – PRIVETT, O.S., J. Am. Oil Chem. Soc., 42, 1965, s. 87.
- [22] SCHMIDT, Š.: Zmeny štruktúr a vlastností lipidov vo vybraných technologických procesoch výroby jedlých tukov. Kandidátska práca. Bratislava 1986, SVŠT Chemickotechnologická fakulta.

## Структурный анализ липидов. II.

### Ферментативное деацилирование триацилглицеринов панкреатической липазой

#### Резюме

Работа описывает условия ферментативного структурного анализа триацилглицеринов (ТАГ) пищевых жиров и масел. Для специфического деацилирования жирных кислот из sn-1 и sn-3 положений ТАГ молекул мы употребили сырую свиную панкреатическую липазу. В условиях разработанного метода мы получили показательные моноацилглицерины (МАГ) и диацилглицерины (ДАГ) в диапазоне с 90 до 150 секунд с момента контакта фермента со субстратом – ТАГ свиного жира.

Правильность метода подтвердилась сравнением замещения жирных кислот в экспериментально определенных и вычисленных структур 1,2(2,3)-ДАГ и также сравнением содержания индивидуальных ТАГ структур (программа TAGST) свиного жира с литературными данными.

## Structural analysis of lipids. II.

### Enzymatic deacylation of triacylglycerols by pancreatic lipase

#### Summary

Conditions of enzymatic structural analysis for triacylglycerols (TAG) of edible fats and oils were described. Crude pork pancreatic lipase was used for specific deacylation of fatty acids from sn-1 and sn-3 positions of TAG molecules. Under the conditions of elaborated method the representative monoacylglycerols (MAG) and diacylglycerols (DAG) were obtained in a span 90 to 150 seconds from contacting the enzyme with the substrate – TAG of lard.

The validity of the method was confirmed by comparing fatty acids content from experimental data and from calculated structures 1,2(2,3)-DAG, as well as by comparing the compositions of individual TAG structures (program TAGST) of lard with literature data.