

## LIPIDEMÉSZTÉS, A LIPÁZAKTIVITÁS MÉRÉSE

Emberben a táplálék lipidjeinek emésztésében főszerepet játszó lipázt a pancreas termeli, ahonnan a duodenumba jutva a neutrális triglicerideket hidrolizálja, a reakció fő termékei zsírsavak és 2-monoacilglicerid. Mivel a trigliceridek apoláros, vizes fázissal spontán nem keveredő molekulák, hidrolízisük sebességét jelentősen befolyásolja a lipid-víz határfelület nagysága. Az epesavak, mint nagy apoláros molekularésszel és poláros csoporttal egyaránt rendelkező vegyületek elősegítik az apoláros zsírok emulgeálódását, és a nagyszámú kisebb méretű lipid csepp összfelülete így megnő. A pancreas lipázt a duodenumban a pancreas proteázoktól eltérően már nem kell proteolitikusan aktiválni, önmagában mégis inaktív konformációt vesz fel. Az enzim aktív konformációja epesavas micellák felszínén, egy polipeptid természetű kofaktor, a kolipáz jelenlétében alakul ki. Mivel a kolipáz viszont pro-kolipázként termelődik a pancreasban, és funkcionális formája tripszin hasítás eredménye, optimális lipáz aktivitással a duodenumban, epesavakkal emulgeált lipid cseppek felszínén, kolipáz jelenlétében számolhatunk. Az epesavak trigliceridemésztést segítő hatása tehát kettős: (i) egyrészt a lipid cseppek összfelületének növelésén keresztül fokozzák a trigliceridbontás sebességét, (ii) másrészt elősegítik a lipáz aktív konformációjának kialakulását. Utóbbi hatásukat olyan szubsztráton lehet tanulmányozni, amelynek az emulgeálásához nem szükséges az epesav. Ilyen például a boltban is kapható homogenizált tej, benne a zsírok eleve finom emulzió formájában vannak jelen, így az epesavak a tej zsírjainak fokozott hidrolízisét csakis a lipáz aktiválása révén fejthetik ki.

Az enzim aktivitásának mérése a lipáz hatására a zsírokból felszabaduló zsírsavak titrálásán alapszik. A zsírsavak gyenge savak, titrálásukat erős bázissal, NaOH-dal végezzük. Mivel gyenge savak erős bázissal alkotott sói lúgosan hidrolizálnak, fenolftalein indikátort alkalmazunk, ennek színváltozása enyhén lúgos pH-tartományban történik és így alkalmas az ekvivalencia pont jelzésére.

### **A gyakorlat menete:**

#### **Anyagok:**

- ▲ 2,8 %-os tej, pH 7,2
- ▲ 10 %-os formaldehid oldat
- ▲ pancreas kivonat, mely lipázt és kolipázt tartalmaz, a továbbiakban lipáznak jelöljük
- ▲ fenolftalein indikátor
- ▲ epe
- ▲ 0,1 N NaOH oldat

### **Hagedorn-csövekben készítjük össze az alábbi rendszereket:**

Anyagok	1	2
Tej (ml)	50	50
Epe (ml)	-	2
Desztillált víz (ml)	2	-
Lipáz (ml)	2	2

A 40 °C-on történő inkubációt a lipáz hozzáadásával indítjuk.

Az inkubálás 0., 10., 20., és 30. percében mindegyik Hagedorn-csőből 10-10 ml mintát veszünk, melyet előre odakészített, 10 ml formaldehidet tartalmazó Erlenmeyer-lombikba pipetázunk, a formaldehid leállítja az enzim működését. A keletkezett zsírsavak meghatározásához az elegyeket 2-3 csepp fenolftalein hozzáadását követően 0,1 N Na-hidroxiddal megtitráljuk. A titráláshoz fogyott NaOH mennyiségét koordináta rendszerben ábrázoljuk az inkubációs idő függvényében.

**Megjegyzés:** A pancreas elzáródása, vagy nekrozisa során a lipáz egy része a keringésbe is bejut. Ezért a szérum lipáz aktivitásának mérése fontos eszköz a pancreas megbetegedéseinek diagnózisában.