

ÚSTAV LÉKAŘSKÉ BIOCHEMIE A LABORATORNÍ DIAGNOSTIKY 1. LF UK  
PRAHA

# Lipidy

(mastné kyseliny,  
lipoperoxidace, trávení)

---

Praktické cvičení z lékařské biochemie  
*Všeobecné lékařství*



Lenka Fialová

2012/2013

## Obsah

<b>TEORETICKÝ ÚVOD.....</b>	<b>3</b>
<b>1. MASTNÉ KYSELINY.....</b>	<b>3</b>
<b>2. LIPOPEROXIDACE .....</b>	<b>4</b>
2.1. POJEM LIPOPEROXIDACE A VOLNÉ RADIKÁLY .....	4
2.2. PRŮBĚH LIPOPEROXIDACE.....	4
2.3. VÝZNAM LIPOPEROXIDACE .....	7
<b>3. TRÁVENÍ A VSTŘEBÁVÁNÍ TUKŮ .....</b>	<b>7</b>
3,1. EMULGACE TUKŮ.....	7
3.2. HYDROLÝZA TUKŮ PANKREATICKOU LIPASOU.....	8
3.3. ROZPTÝLENÍ PRODUKTŮ HYDROLÝZY VE VODNÉM PROSTŘEDÍ .....	10
3.4. RESORPCE TUKŮ.....	10
<b>PRAKTICKÉ ÚLOHY.....</b>	<b>12</b>
<b>1. PRŮKAZ NENASYCENÝCH VAZEB V MASTNÝCH KYSELINÁCH .....</b>	<b>12</b>
<b>2. STANOVENÍ MALONDIALDEHYDU.....</b>	<b>12</b>
<b>3. HYDROLYTICKÉ ŠTĚPENÍ TUKŮ PANKREATICKOU LIPASOU.....</b>	<b>12</b>

## Teoretický úvod

Lipidy jsou z hlediska chemické struktury heterogenní skupina organických látek hydrofobního nebo amfipatického charakteru. Vyznačují se *špatnou rozpustností ve vodě*, ale dobře se rozpouštějí v organických rozpouštědlech (chloroform, benzen, ether). Po strukturní stránce jsou lipidy *deriváty mastných kyselin*.

### 1. Mastné kyseliny

Mastné kyseliny (MK) jsou *karboxylové kyseliny s alifatickým uhlovodíkovým řetězcem obvykle o délce 4 – 26 uhlíků*. Představují nejbohatší zdroj energie. Jsou charakteristickou součástí lipidů, samostatně se vyskytují ojediněle. Mastné kyseliny v přírodních tucích mívají *sudý počet uhlíků a nerozvětvený řetězec*. Při jejich třídění se vychází z délky uhlovodíkového řetězce a stupně jeho nasycení.

**Podle délky** uhlovodíkového řetězce rozdělujeme mastné kyseliny na tyto skupiny:

- mastné kyseliny s krátkým řetězcem (short-chain fatty acid – SCFA) < 6 uhlíků
- mastné kyseliny se středně dlouhým řetězcem (medium-chain fatty acid – MCFA) 6 – 12 uhlíků
- mastné kyseliny s dlouhým řetězcem (long-chain fatty acid – LCFA) 14 – 20 uhlíků
- mastné kyseliny s velmi dlouhým řetězcem (very-long chain fatty acid – VLCFA) > 20 uhlíků

**Podle stupně nasycení** rozlišujeme:

- nasycené mastné kyseliny (saturated fatty acids – SFA);
- nenasyčené mastné kyseliny.

Mastné kyseliny s jednou dvojnou vazbou označujeme jako *mononenasyčené neboli monoenové mastné kyseliny* (monounsaturated fatty acids – MUFA); pokud jsou v molekule přítomny dvě a více dvojných vazeb, hovoříme o *polynenasyčených (vícenenasyčené) neboli polyenových mastných kyselinách* (polyunsaturated fatty acids – PUFA).

Dvojně vazby polynenasyčených mastných kyselin jsou obvykle nekonjugované, oddělené methylenovými skupinami. Pro další dělení polynenasyčených mastných kyselin jsou důležité polohy dvojných vazeb, zejména umístění první dvojně vazby vzhledem k terminální methylové skupině (označuje se  $\underline{n}$  nebo  $\omega$ ):

- *n-3* ( $\omega-3$ ) první dvojná vazba je umístěná na třetím uhlíku od methylové skupiny;
- *n-6* ( $\omega-6$ ) první dvojná vazba je umístěná na šestém uhlíku od methylové skupiny;
- *n-9* ( $\omega-9$ ) první dvojná vazba je umístěná na devátém uhlíku od methylové skupiny.

Prostorová konfigurace v přirozeně se vyskytujících nenasyčených mastných kyselinách bývá převážně *cis*.

Důležitou mastnou kyselinou ze skupiny n-6 je esenciální *kyselina linolová* a dále *kyselina arachidonová*, z níž se v organismu vytváří skupina biologicky aktivních látek označovaných jako eikosanoidy. Hlavními zástupci skupiny n-3 je rovněž esenciální kyselina  *$\alpha$ -linolenová*, se kterou se setkáváme hlavně v rostlinných olejích, a kyseliny eikosapentaenová a dokosahexaenová s delšími uhlovodíkovými řetězci a větším počtem dvojných vazeb, vyskytující se v rybím tuku. Zastoupení některých mastných kyselin ve vybraných tucích je uvedeno v tab. 1.

V zásobním tuku lidí a dalších teplokrevných živočichů převládají nasycené mastné kyseliny. Ve fosfolipidech biologických membrán, které musí udržovat fluiditu, jsou zastoupeny nasycené i nenasyčené mastné kyseliny.

Polynenasyčené mastné kyseliny snadno podléhají oxidativnímu poškození (lipoperoxidaci – viz níže).

Tab. 1 Obsah některých mastných kyselin v % ve vybraných tucích (Velíšek, 1999)

Kyselina	Olivový olej	Slunečnicový olej	Sojový olej	Sardinkový olej	Vepřové sádlo	Mléčný tuk (kravský)
k. palmitová	8 – 20	5 – 8	10 – 13	9 – 22	20 – 32	20 – 32
k. stearová	1 – 5	3 – 7	3,0 – 5	2 – 7	5 – 24	8 – 14
k. olejová	55 – 83	13 – 40	18 – 25	7 – 17	35 – 62	17 – 26
k. linolová	4 – 21	40 – 74	50 – 57	1 – 3	3 – 16	0 – 2
k. linolenová	0 – 2	< 0,5	6 – 10	0 – 1	< 1,5	0 – 1
k. arachidonová	–	–	–	–	–	0 – 1
k. eikosapentaenová	–	–	–	9 – 35	–	–
k. dokosaheptaenová	–	–	–	4 – 13	–	–

## 2. Lipoperoxidace

### 2.1. Pojem lipoperoxidace a volné radikály

Jako *peroxidaci lipidů – lipoperoxidaci* označujeme oxidativní poškození vyšších mastných kyselin v autokatalytickém nekontrolovaném procesu, jehož výsledkem je tvorba hydroperoxidů lipidů a dalšího spektra sekundárních metabolitů včetně aldehydů.

Lipoperoxidaci může nastartovat každá látka, která má dostatečnou afinitu k elektronům a je schopna vytrhnout vodíkový atom (proton a elektron) z methylenové skupiny uhlovodíkového řetězce mastné kyseliny. Mezi takové látky patří *volné radikály, což jsou látky (prvky, sloučeniny, ionty) s jedním nebo více nepárovými elektrony*. Jsou velmi reaktivní a vyznačují se *tendencí k řetězovým reakcím*, kdy radikál může předat svůj nepárový elektron, nebo ho přijmout, nebo se sloučit s jinou molekulou. Jako příklad si uvedeme některé kyslíkaté volné radikály, které se nejčastěji uplatňují při lipoperoxidaci:

- hydroxylový radikál HO• – nejreaktivnější kyslíkový metabolit a radikál s nejkratším poločasem;
- alkoxylový radikál RO• – vysoce reaktivní organický radikál;
- peroxylový radikál ROO• – formálně vzniká vytržením atomu vodíku z hydroperoxidů (např. lipidových).

K urychlení lipoperoxidace významně přispívají i ionty některých kovů, např. železa nebo mědi.

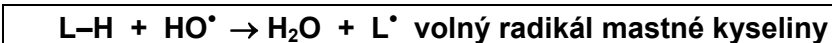
*Substrátem lipoperoxidace* jsou především *nenasycené vyšší mastné kyseliny*, které jsou součástí fosfolipidů biologických membrán a plazmatických lipoproteinů. Lipoperoxidaci nejsnáze podléhají karboxylové kyseliny se dvěma a více dvojnými vazbami, jako je např. kyselina linolová (18:2), linolenová (18:3) a arachidonová (20:4). Podmínkou citlivosti k lipoperoxidaci je totiž přítomnost minimálně dvou dvojných vazeb oddělených methylenovou skupinou (-CH<sub>2</sub>-), která se vyznačuje vysokou reaktivitou. Nasycené vyšší karboxylové kyseliny se oxidují jen výjimečně a rovněž vyšší karboxylové kyseliny s jednou dvojnou vazbou (např. kyselina olejová) podléhají lipoperoxidaci jen za extrémních podmínek.

### 2.2. Průběh lipoperoxidace

Proces lipoperoxidace probíhá v několika fázích (obr. 1):

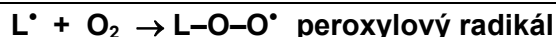
- **Iniciace**

Při *iniciaci* je z uhlovodíkového řetězce mastné kyseliny odštěpen působením volných radikálů atom vodíku (proton a elektron) za vzniku volného radikálu mastné kyseliny a vody.



Po vytržení vodíku se elektrony v uhlovodíkovém řetězci mastných kyselin přeskupí tak, že mezi dvěma dvojnými vazbami zůstane pouze jedna jednoduchá, zatímco ve výchozí mastné kyselině byly

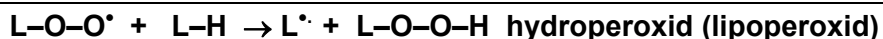
dvojn  vazby odděleny dvěma jednoduchými. Vzniká *konjugovan dien*, kter velmi rychle reaguje v aerobním prostředí s kyslíkem za vzniku radikálu peroxylu.



- **Propagace**

Jako *propagace* se označuje fáze lipoperoxidace, při níž se iniciuje oxidace dalšího řetězce polynenasycene mastne kyseliny.

Peroxylov radikál se vyznačuje vysokou reaktivitou a je schopen z mastne kyseliny sousedního lipidu vytrhnout atom vodíku a tm z ní vytvořit nový radikál. Původn peroxylov radikál se tímto způsobem p emn na hydroperoxid – lipoperoxid (LOOH) s konjugovanm uspořádáním dvojne vazby. Sled těchto reakcí se mž mnohonsobne opakovat, a proto mluvíme o řetězov reakci.



Lipoperoxidy se stejnm počtem dvojných vazeb jako v původních mastných kyselinách, ale s polohou dvojne vazby zpravidla posunutou o jeden atom uhlíku buď ke karboxylu nebo koncovému metylu, jsou *primárními reakcnmi produkty lipoperoxidace*.

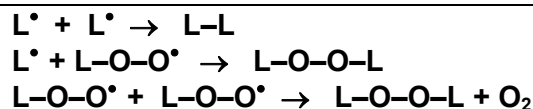
Primrn produkty mastných kyselin se mohou dále měnit několika způsoby:

- reakcemi za vzniku cyklických produktů, při nichž se nemn počet atomů uhlíků v molekule;
- reakcemi, při nichž se molekula štp a vznikj produkty s menším počtem atomů uhlíků, kter mají charakter aldehydů, uhlovodíků nebo oxokyselin. Látky typu ethanu a pentanu vydechujeme, aldehydy 4-hydroxynonenal, malondialdehyd jsou toxicke a pevne se vážou na proteiny, čímž mn jejich funkce;
- polymeračními reakcemi.

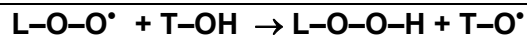
Tyto reakce vedou k tvorbě *sekundárních produktů lipoperoxidace*.

- **Terminace** lipoperoxidace nastane:

- při vyčerpání substrátu;
- při vzjemn reakci dvou radikálů. V připadá, že je jejich koncentrace v reakcnm systému dost vysok, je pravdpodobne, že dva voln radikály spolu reagují za vzniku neradiklovho, pomrne stabilního produktu, a tím je řetězov reakce ukončena.



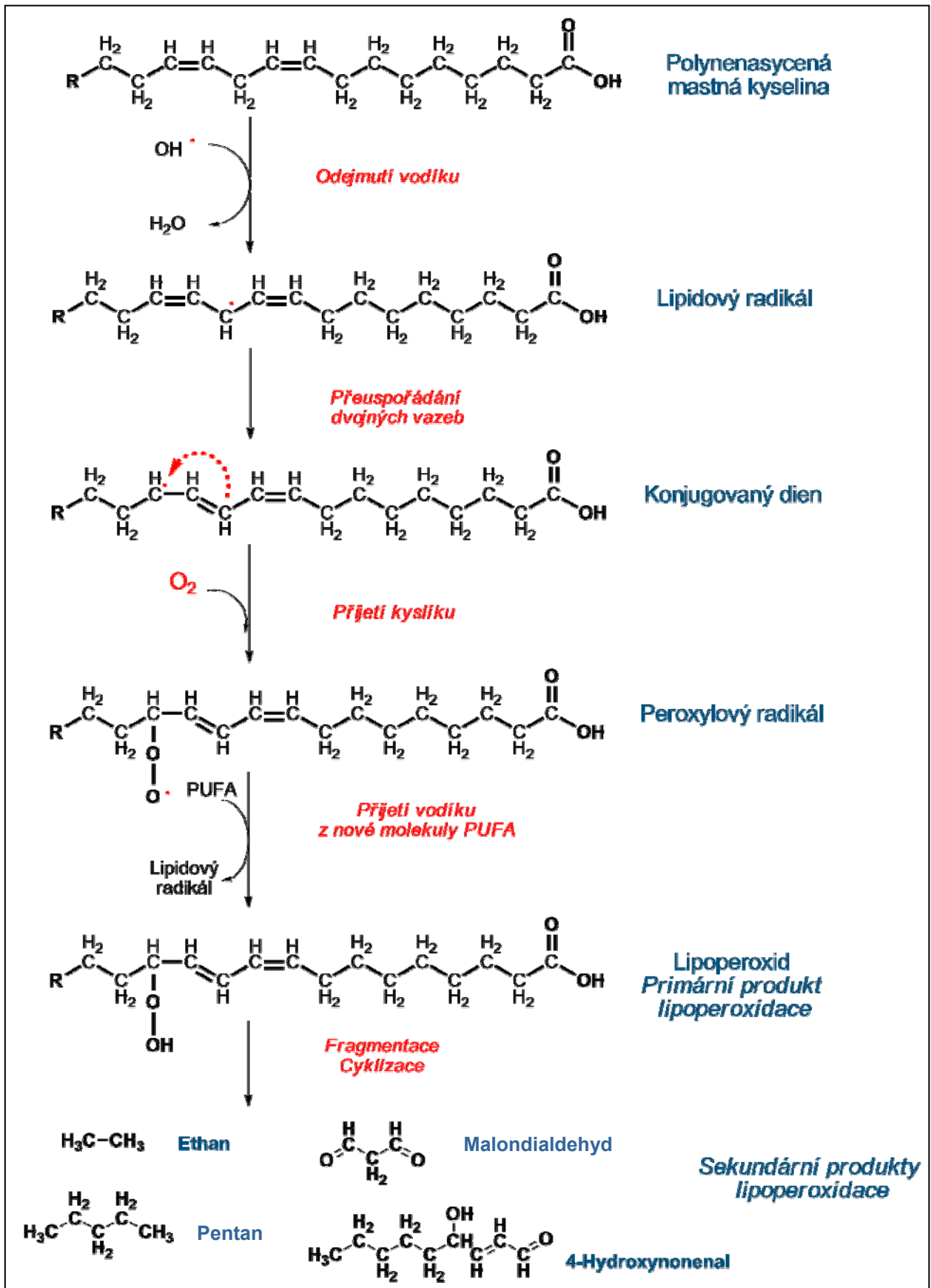
- působením antioxidantů, např. tokoferolu.



T-OH tokoferol

T-O• tokoferyl (radikál) – není dostatene reaktivní a nemůž proto štpt další molekulu lipidu.

Obr. 1 Lipoperoxidace nenasycených mastných kyselin



### 2.3. Význam lipoperoxidace

1. Lipoperoxidace, pokud probíhá nekontrolovaně, představuje *in vivo* destruktivní proces. Volné radikály reagují velmi rychle nejen s lipidy přítomnými v buněčných membránách, ale i s membránovými bílkoviny, zabudovanými enzymy a nukleovými kyselinami. Při působení volných radikálů se mění struktura a fyziologická funkce napadených sloučenin. Rovněž struktura lipoproteinových částic cirkulujících v krvi může být lipoperoxidací narušena a tím přispívat k předčasné ateroskleróze.
2. Peroxidací lipidů *in vitro* se zabývá potravinářská chemie. Lipoperoxidaci mohou podléhat jedlé tuky v průběhu skladování nebo zpracování. Při běžných teplotách se vzdušným kyslíkem oxidují jen nenasyčené mastné kyseliny. Za vyšších teplot, které připadají v úvahu při pečení, smažení a pražení, dochází i k autooxidaci nasycených mastných kyselin. Oxidační reakce lipidů jsou doprovázeny zhoršením sensorické jakosti a takové pochody jsou známé jako **žluknutí tuků**.

## 3. Trávení a vstřebávání tuků

U zdravého dospělého člověka by tuky měly hradit asi 25 – 30 % energetického příjmu. Trávení a resorpce triacylglycerolů (TG), které se u dospělých uskutečňuje převážně v tenkém střevě, představuje proces zahrnující několik odlišných kroků – emulgaci, hydrolyzu triacylglycerolů na mastné kyseliny a monoacylglyceroly, jejich rozptýlení ve vodném prostředí a poté vychytávání enterocyty.

### 3.1. Emulgace tuků

Štěpení tuků probíhá na fázovém rozhraní olej-voda. Triacylglyceroly jakožto látky nerozpustné ve vodě jsou agregovány ve formě velkých tukových kapének. Za těchto okolností by trávicím enzymům přítomným ve vodné fázi byly přístupné pouze triacylglyceroly na povrchu kapénky, a trávení by probíhalo obtížně.

Emulgací tuků se velké kapénky rozdělí na mnoho menších, tím se zvětšuje jejich celkový povrch a usnadňuje se jejich hydrolyza pomocí pankreatické lipasy. K emulgaci přispívají dva vzájemně se doplňující mechanismy – **peristaltika společně s působením žlučových kyselin a fosfolipidů**, které jsou součástí žluči. Peristaltické pohyby jsou zahajovány v žaludku a pokračují v duodenu.

### Žlučové kyseliny

Žlučové kyseliny jsou amfipatické molekuly. Jejich strukturním základem je steranové jádro, které představuje nepolární část molekuly a orientuje se k nepolárním povrchům. Polární skupiny molekuly (1 – 3 OH skupiny, glycin či taurin) naopak směřují do vodného prostředí (obr. 2). Tato struktura společně s tvarem molekuly umožňuje žlučovým kyselinám působit **jako detergent a účinně emulgovat tuky**, a tak je připravit na štěpení pankreatickou lipasou.

Žlučové kyseliny se syntetizují v hepatocytech přeměnou cholesterolu. Mezi **primární žlučové kyseliny** patří **kyselina cholová a chenodeoxycholová** (obr. 3), které se prostřednictvím karboxylové skupiny konjugují s aminokyselinami glycinem nebo taurinem. Takto vznikají čtyři primární konjugované žlučové kyseliny: glykocholová, taurocholová, glykochenodeoxycholová a taurochenodeoxycholová. Konjugace přispívá ke zvýšení polaritu původních žlučových kyselin. Konjugované primární žlučové kyseliny jsou secernovány žlučí do střeva. Většina žlučových kyselin prodělává tzv. **enterohepatální oběh**, při němž jsou z tenkého střeva zpětně resorbovány a vracejí se do jater.

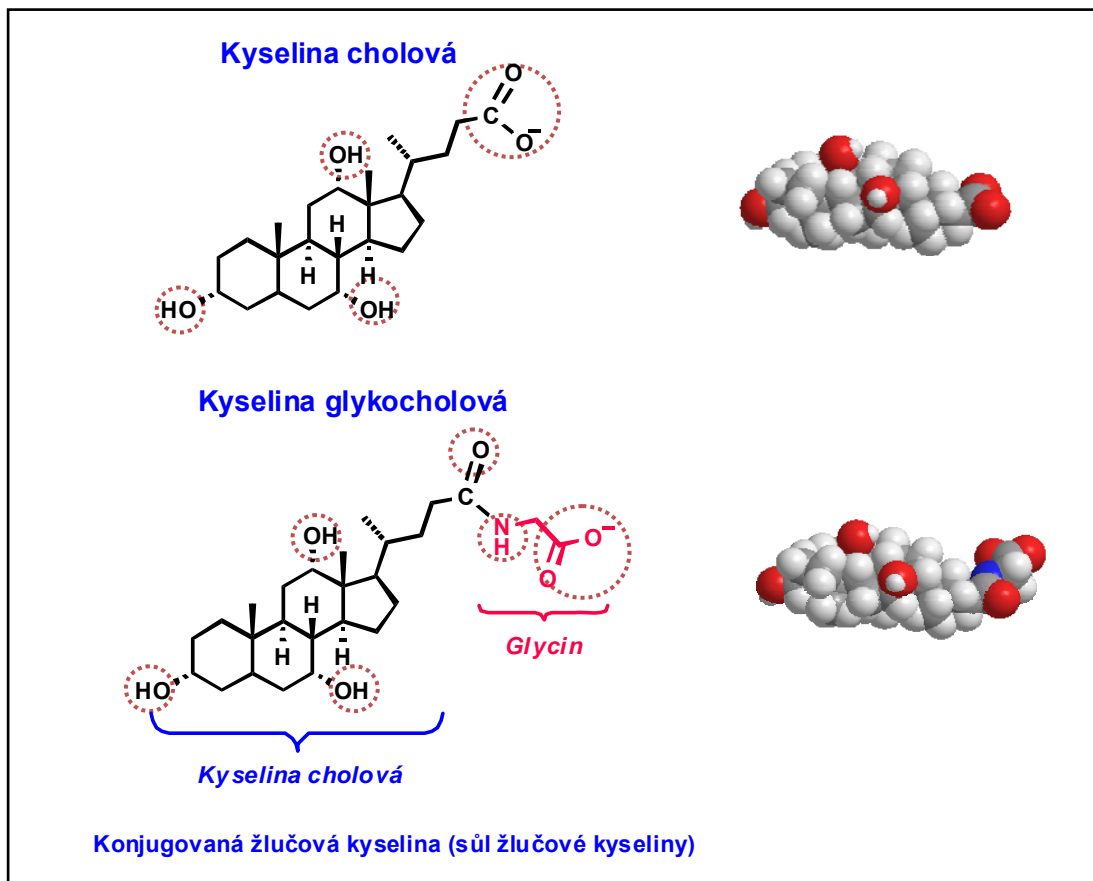
Ve střevě působením endogenní bakteriální flóry může dojít k dekonjugaci a k odstranění OH skupiny na 7. uhlíku primárních žlučových kyselin. Tyto změny vedou k přeměně některých

primárních žlučových kyselin **na sekundární žlučové kyseliny** – **kyselinu deoxycholovou** (z kyseliny cholové) a **litocholovou** (z kyseliny chenodeoxycholové) (obr. 3). Sekundární žlučové kyseliny (kys. litocholová velmi omezeně) se rovněž ze střeva resorbují a v játrech se konjugují s glycinem nebo taurinem.

Výsledkem emulgace tuků je vznik **emulze tukových kapek** o velikosti 200 – 500 nm, jejichž povrch je pokryt solemi žlučových kyselin. Vzhledem k jejich negativnímu náboji se tukové kapénky navzájem odpuzují a nedochází k jejich agregaci.

### Obr. 2 Struktura žlučové kyseliny a její soli s glycinem

(strukturní vzorec a 3D uspořádání; červené označeny atomy kyslíku, modře atom dusíku; červené tečkované kroužky označují hydrofilní skupiny v molekule)



### 3.2. Hydrolýza tuků pankreatickou lipasou

Trávení tuků se uskutečňuje na povrchu kapének emulgovaného tuku enzymem **pankreatické lipasy** (triacylglycerollipasa, EC 3.1.1.3), která je secernována zevně sekretorickou částí pankreatu.

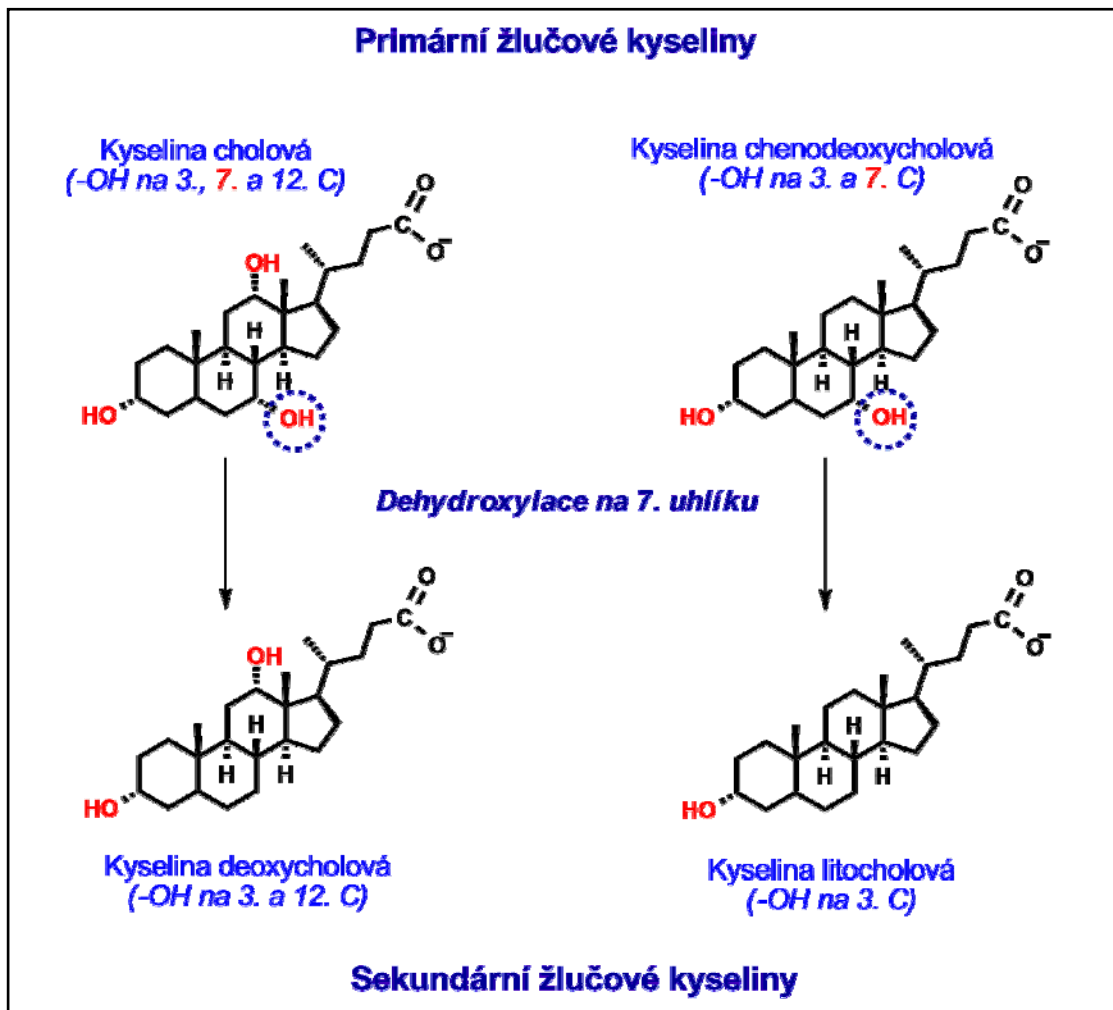
Pankreatická lipasa působí pouze na rozhraní olej-voda emulze triacylglycerolů a rychlost hydrolýzy TG závisí na velikosti povrchu emulgovaného substrátu. Její katalytické místo je lokalizováno v N-koncové globulární hydrofobní doméně. V oblasti C-koncové domény se nachází oblast pro vazbu tzv. **kolipasy**. Je to malý proteinový kofaktor, syntetizovaný rovněž pankreatem přibližně v ekvimolárním množství s lipasou. Kolipasa uvolňuje žlučové kyseliny z povrchu micel a napomáhá zakotvení lipasy na rozhraní olej-voda emulgovaného tuku.

Pankreatická lipasa se vyskytuje ve dvou odlišných konformacích – **aktivní (otevřeně) a inaktivní (uzavřeně)**. V inaktivní konformaci je aktivní místo zakryto. Kolipasa vytváří s lipasou komplex, během jehož tvorby se v důsledku konformačních změn aktivní místo odhalí. Kromě toho



pankreatická lipasa společně s kolipasou vytváří velkou hydrofobní oblast, která reaguje s triacylglyceroly.

Obr. 3 Primární a sekundární žlučové kyseliny



Pankreatická triacylglycerolová lipasa katalyzuje přednostně hydrolýzu primárních esterových vazeb triacylglycerolu (na 1. a 3. uhlíku) za vzniku molekuly 2-monoacylglycerolu a dvou molekul mastných kyselin. Ty představují hlavní štěpné produkty působení pankreatické lipasy. Sekundární esterová vazba je vůči hydrolýze pankreatickou lipasou resistantní. Může však izomerizovat na první nebo třetí uhlík monoacylglycerolu a poté být odstraněna. Tento proces je však pomalý a na glycerol a mastné kyseliny je rozštěpena méně než 1/4 triacylglycerolů (obr. 4).

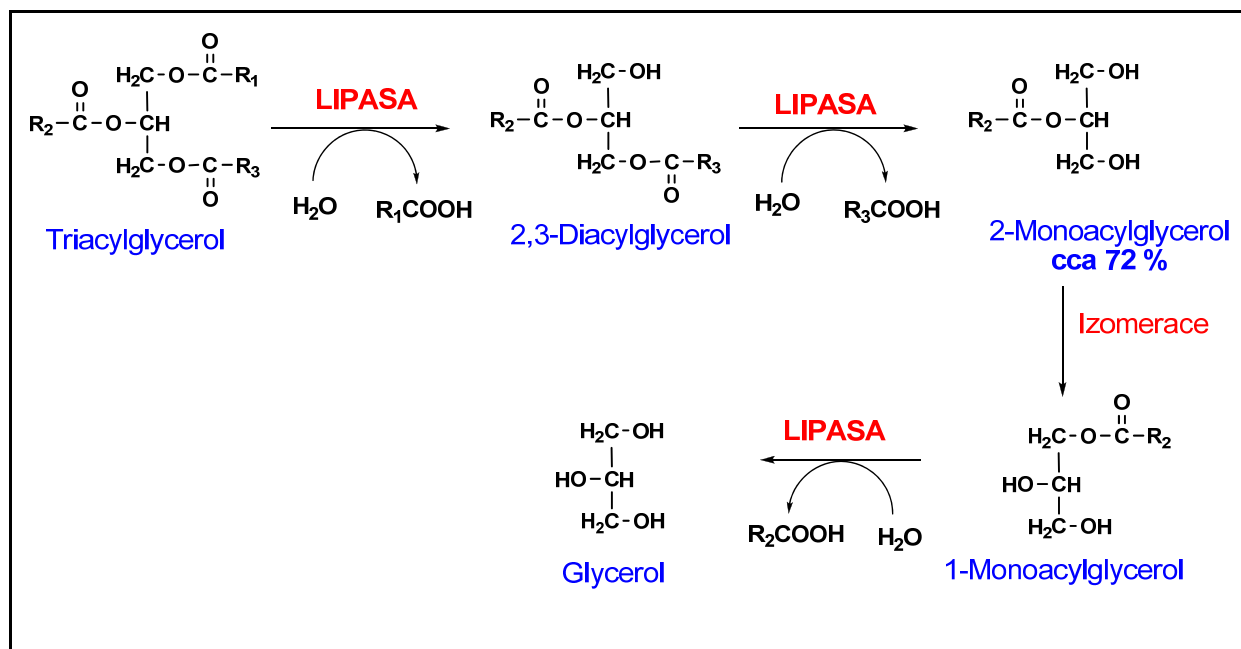
### Klinicko-biochemická poznámka

Vyšetření pankreatické lipasy v séru či plazmě se používá při diagnóze onemocnění pankreatu. Zvýšenou aktivitu v séru nacházíme zejména u pacientů s *akutní pankreatitidou*. Stanovení pankreatické lipasy je u akutní pankreatitidy specifitější ve srovnání s  $\alpha$ -amylasou. Na rozdíl od  $\alpha$ -amylasy její aktivita nestoupá u onemocnění slinných žláz, neboť se nevyskytuje v glandula parotis. Vzestup pankreatické lipasy, který vrcholí za 24 hodin po atace akutní pankreatitidy, je obvykle paralelní s  $\alpha$ -amylasou, je však výraznější a přetrvává delší dobu.

Metody stanovení lipasy využívají různých přístupů. U **titračních metod** slouží jako substrát emulze olivového oleje či čistého trioleinu, s nímž se inkubuje sérum. Poté jsou uvolněné mastné

kyseliny, jejichž množství je úměrné aktivitě lipasy, titrovány NaOH na fenolftaleinový indikátor. Jiné metody jsou založeny na měření úbytku zákalu *turbidimetricky nebo nefelometricky*. Podstatou je, že původně zakalená emulze substrátu se v průběhu hydrolyzy lipasou v přítomnosti žlučových kyselin a kolipasy vyčeřuje a zákal se vyjasňuje. Dostupné jsou i metody *fotometrické a imunoanalytické*.

Obr. 4 Hydrolyza triacylglycerolů pankreatickou lipasou



### 3.3. Rozptýlení produktů hydrolyzy ve vodném prostředí

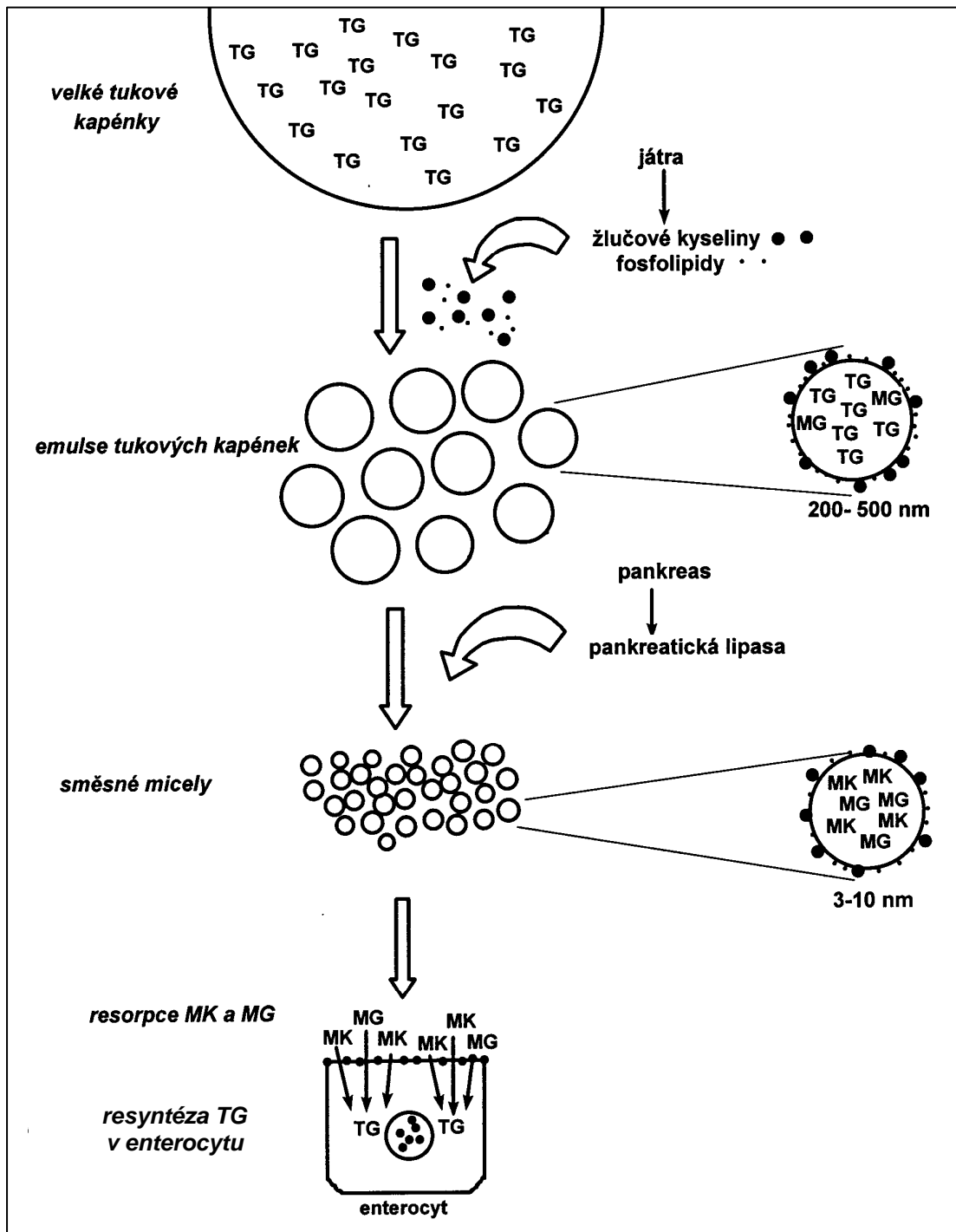
Působením pankreatické lipasy se zmenšuje objem olejové fáze a lipolytické produkty jsou stabilizovány do *směsných micel*, které mají podobné uspořádání jako emulze tuků, ale jsou mnohem menší (3 – 10 nm). Jsou to vysokomolekulární agregáty kulovitého nebo válcovitého tvaru tvořené hydrolytickými produkty lipasy (mastnými kyselinami a 2-monoacylglyceroly), žlučovými kyselinami a fosfolipidy uspořádanými tak, že polární skupiny jednotlivých molekul míří do vodného prostředí a nepolární skupiny či struktury jsou zanořeny do nepolárního jádra. Hydrofobní jádro má schopnost přitáhnout další nepolární molekuly jako je cholesterol, karotenoidy, tokoferol, popř. nerozštěpené triacylglyceroly.

### 3.4. Resorpce tuků

Monoacylglyceroly a mastné kyseliny s dlouhým řetězcem ze směsných micel jsou transportovány přes kartáčový lem do enterocytů, kde proběhne jejich reesterifikace na triacylglyceroly a ve formě chylomikronů jsou uvolňovány do lymfy. Mastné kyseliny s nižším počtem uhlíků (méně než 10) přecházejí přímo do portální krve. Přehledné schéma trávení a resorpce tuků je uvedeno na obr. 5.

Obr. 5 Schéma trávení a resorpce tuků

(MG – monoacylglycerol, TG – triacylglycerol, MK – mastná kyselina)



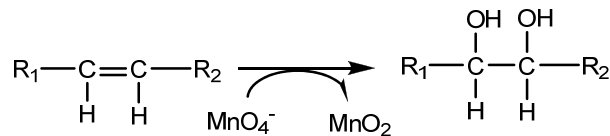
## Praktické úlohy

### 1. Průkaz nenasycených vazeb v mastných kyselinách

#### Princip:

Sloučeniny obsahující násobné vazby jsou velmi citlivé k oxidaci. Této vlastnosti se využívá k jejich průkazu. Při oxidaci násobné vazby roztokem manganistanu draselného vzniká dvojsytný alkohol. V průběhu reakce se manganistan draselný redukuje, mizí jeho charakteristické fialové zbarvení a vzniká hnědé zbarvení.

#### Oxidace dvojných vazeb manganistanem draselným



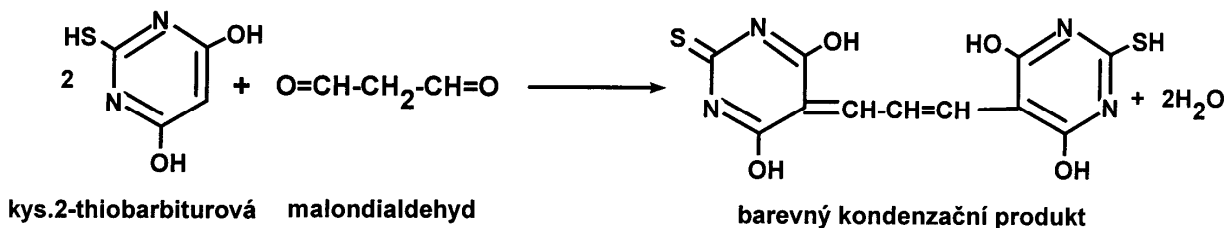
### 2. Stanovení malondialdehydu

#### Princip:

Malondialdehyd (MDA) je považován za nejhojnější koncový produkt lipoperoxidace. Vzniká při oxidačním poškození mastných kyselin s nejméně třemi dvojnými vazbami.

Stanovení hladiny malondialdehydu se používá k posouzení intenzity peroxidace lipidů jak v živém organismu, tak pro posouzení kvality tuků v potravinářském průmyslu. Obvykle se stanovuje *reakcí s kyselinou thiobarbiturovou* v kyselém prostředí. Vzniká fialový produkt tvořený dvěma molekulami kyseliny thiobarbiturové a jednou molekulou malondialdehydu. Reakční produkt se měří spektrofotometricky nebo fluorimetricky.

#### Reakce malondialdehydu s kyselinou thiobarbiturovou



Reakci s kyselinou thiobarbiturovou provedeme ve dvou vzorcích rostlinného oleje (čerstvého a s prošlou expirační lhůtou) a s kyselinou palmitovou. Zbarvení bude hodnoceno pouze kvalitativně.

### 3. Hydrolytické štěpení tuků pankreatickou lipasou

#### Princip:

Pankreatická lipasa hydrolyzuje především koncové esterové vazby triacylglycerolů. Množství uvolněných mastných kyselin se stanoví neutralizační titrací hydroxidem sodným. Podobný princip může být využit i ke stanovení katalytické koncentrace pankreatické lipasy v biologickém materiálu (sérum či plazma, pankreatická šťáva).

**Použitá literatura:**

Davídek J. a kol.: Laboratorní příručka analýzy potravin, SNTL, 1981.

Ďuračková Z. : Volné radikály a antioxidanty v medicíně I. Slovak Academic Press, Bratislava, 1998

Humlová A., Balvín M.: Praktická cvičení z lékařské chemie II. Karolinum, Praha, 1999.

Kraml J. a kolektiv: Návody k praktickým cvičením z lékařské chemie a biochemie. Karolinum, Praha 1999.

Lowe M.E.: The triglyceride lipases of the pancreas. J. Lipid Res., 43, 2007-2016, 2002

Murray R.K a kol.: Harperova biochemie. H&H, 1998.

Štípek S.a kol.: Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a nemoc. Grada Publishing, Praha, 2000.

Velíšek J.: Chemie potravin 1. Osis, Tábor, 1999.