.

آزمایشگاه پوشیمی ساختار
نبی‌پور

فصل چهارم:لیپیدها :

لیپیدها ، یکی دیگر از مواد آلی موجود در طبیعت هستند که شامل ترکیبات مختلف و ناهمگن می‌باشندکه به صورت مستقیم و غیرمستقیم به اسیدهای چرب [۱۵] ارتباط دارند. به زبان بهتر واحدهای اصلی سازنده چربیها را

[15] Fatty Acid

اسیدهای چرب گویند. لیپیدها در خاصیت نامحلول بودن در آب و محلول بودن در حلال‌های غیرقطبی مانند، اتر، کلروفرم، و بنزن با هم مشترک می‌باشند. لذا براساس همین خصوصیت است که چربیها، روغن‌ها، استروئیدها و موم‌ها و مشتقات آنها را در گروه ترکیبات آلی به نام لیپدها طبقه بندی می‌کنند.

بعضی از لیپیدها در ساختار جدار و غشای یاخته‌ای شرکت دارند و برخی دیگر مادهٔ ذخیره‌ای انرژی‌زای درون یاخته‌ها را تشکیل می‌دهند.

چربی‌ها را به انواع زیر تقسیم می‌کنند:

۱. چربی‌های خنثی (آسیل گلیسرول‌ها) :

مهم‌ترین شکلهای ذخیره‌ای لیپیدها هستند که در سلولهای جانوری و گیاهی به صورت ذرات چربی وجود دارند. انرژی حاصل از اکسایش تری گلیسریدها چند برابر انرژی حاصل از اکسایش قندها یا پروتئین‌ها می‌باشد. تری گلیسریدها از ترکیب سه مولکول اسید چرب و یک مولکول گلیسرول تشکیل می‌شوند.

۲. فسفولیپیدها :

برخلاف تری گلیسریدها که چربیهای خنثی و ذخیره‌ای هستند، فسفولیپیدها ترکیبات باردار و ساختاری هستند. غشای پلاسمایی ، غشای اندامکهای یاخته‌ای و کلیه سیستم‌های غشایی که در یاخته دیده می‌شوند، اساسا از فسفولیپید ساخته شده‌اند. به عبارت دیگر ، فسفولیپیدها هرگز به صورت ذخیره‌ای دیده نمی‌شوند.

در این ترکیبات به کربن‌های شماره ۱و۲ گلیسرول مولکول اسید چرب اشباع شده یا اشباع نشده متصل گردیده و کربن شماره ۳ با اسید فسفریک پیوند استری می‌سازد و به همین دلیل فسفولیپیدها از نظر ساختاری شامل یک سر قطبی و یک دم ناقطبی هستند.

۳. اسفنگولیپیدها:

دسته دیگری از لیپیدهای ساختاری می‌باشند که دارای یک سر قطبی و دو دم ناقطبی هستند. دم این ترکیبات یک مولکول اسید چرب و یک مولکول آمینو الکل به نام اسفنگوزین یا یکی از مشتقات آن است. به بخش سر قطبی اسفنگولیپیدها نیز ترکیباتی مانند اتانول آمین ، کولین و غیره متصل می‌شود.

اگر ترکیب اسید چرب بوسیله پیوند آمیدی به گروه آمین آمینو الکل به نام اسفنگوزین متصل شود، دسته‌ای از اسفنگولیپیدها بدست می‌آیند که سرآمید نامیده می‌شود. سرآمید فقط شامل اسید چرب و اسفنگوزین است. اگر به اسفنگوزین گروههایی متصل شوند، انواع دیگری از اسفنگولیپیدها ساخته می‌شوند. از مهم‌ترین اسفنگولیپیدها می‌توان اسفنگومیلینها ، سربروزیدها و گانگلیوزیدها را نام برد.

۴. مومها :

مومها از نظر ساختار و خواص به اسیل گلیسرول‌ها شباهت دارند، یعنی استرهای اسیدهای چرب و الکل‌هایی با زنجیرکربنی بلند که تنها شامل یک عامل الکلی هستند.

لیپیدهای ساده :

لیپیدهای ساده ترکیباتی هستند که در ساختارشان اسید چرب وجود ندارد، ولی مانند لیپیدها در آب نامحلول‌اند. از مهمترین آنها می‌توان استروئیدها و ترپن‌ها را نام برد.

۱. استروئیدها :

استروئیدها ترکیبات حلقوی درشت مولکولی شامل سه حلقه سیکلوهگزان هستند که در یک ساختار فنانترن آرایش یافته‌اند. سردسته این گروه استرولها هستند که از مهم‌ترین آنها کلسترول را می‌توان نام برد. نمک‌های صفراوی، هورمون‌های جنسی ، ویتامین محلول در چربی مانند مانند ویتامین D نیز در این گروه قرار می گیرند. یاخته‌های گیاهی فاقد کلسترول هستند.

۲. ترپن‌ها :

ترپن‌ها لیپیدهای ساده‌ای هستند که به مقدار اندک در یاخته‌ها دیده می‌شوند. واحد سازنده ترپن‌ها هیدروکربن پنج کربنی ۲- متیل ۱ و ۳ بوتان دی ان یا ایزوپرن است. ترپن‌ها در گیاهان از مهم‌ترین ترکیبات کاروتنوئیدها می‌باشند که از انواع مهم آنها بتا کاروتن را می‌توان نام برد. ویتامینهای محلول در چربی مانند K، E، D، A و فیتول (در ساختار کلروفیل) و یوبی کوئینون از ترکیبات ترپنی هستند.

آزمایش‌های کیفی لیپیدها :

آزمایش۱ : حلالیت

وسایل و مواد مورد نیاز: پیه گوسفند ،روغن زیتون، لولهٔ آزمایش، الکل اتیلیک،اتر، کلروفرم، بن ماری،کاغذ صافی

روش کار:

اندکی پیه گوسفند در هر یک از چهار لولهٔ آزمایش بریزید و در هر کدام به ترتیب ۳ میلی لیتر از حلال های آب الکل اتیلیک ، اتر و کلروفرم اضافه کرده و حلالیت را در حلال های مذکور مشاهده کنید .

حلالیت روغن زیتون را در حلال های نامبرده آزمایش کرده ، سپس یک تا دو قطره از محلول های اتری پیه گوسفند ، روغن زیتون را جداگانه روی یک کاغذ صافی خشک بگذارید. پس از تبخیر اتر، مشخصات لکهٔ روغنی را مشاهده کنید.

آزمایش۲ : اکسایش اسیدهای چرب اشباع نشده

وسایل و مواد مورد نیاز: روغن زیتون ، لولهٔ آزمایش ، محلول کربنات سدیم ، محلول پرمنگنات پتاسیم

روش کار:

۵ قطره روغن زیتون را در لوله آزمایش بریزید سپس ۲ ml کربنات سدیم ۰.۵٪ به آن اضافه کرده و خوب مخلوط کنید.کربنات سدیم با ایجاد PH قلیایی باعث حل شدن روغن زیتون می شود.۲ قطره پتاسیم پرمنگنات ۰.۵٪ به آن اضافه کنید چند دقیقه صبر کنید تا بی رنگ شدن پتاسیم پرمنگنات را ببینید.

۱.دلیل بی‌رنگ شدن پرمنگنات چیست؟

آزمایش۳ : لیبرمن- بورشاد

وسایل و مواد مورد نیاز: کلسترول، لولهٔ آزمایش، کلروفرم، انیدریداستیک، اسیدسولفوریک، پیپت و پوآر

روش کار:

چند میلی گرم کلسترول را در لوله آزمایش در ۳ میلی لیتر کلروفرم حل کرده و سپس ده قطره انیدرید استیک و دو قطره اسیدسولفوریک غلیظ به آن اضافه کرده و به آرامی تکان دهید و سپس بگذارید ۵ دقیقه بماند. رنگ حاصله را مشاهده کنید.

کلسترول:

کلسترول از گروه الکل های جامد حلقوی به نام استرول می باشد که با اسیدهای چرب ایجاد استریدها (یک نوع لیپید) می نماید،

کلسترول به طور طبیعی در خون و سلولهای تمام بافتهای حیوانی به مقادیر مختلف یافت می شود. علاوه بر کلسترول که توسط مواد غذایی به بدن می‌رسد. تقریباً در تمام سلولهای بدن و به ویژه در کبد کلسترول از طریق متراکم شدن ریشه های دو کربن دار استات تولید می شود،.

کلسترول در کبد به اسیدهای صفراوی، در غدد فوق کلیوی و غدد مترشحه هورمونهای جنسی به هورمونهای استروئیدی و بالاخره در زیر پوست (مشتق دهیدروکلسترول) به ویتامینD تبدیل می گردد.

کلسترول جزء اصلی ساختمان غشای سلولی و پیشسازی برای هورمون های استروئید و اسیدهای صفراوی است.

در سلول سنتز می‌شود و از طریق مواد غذایی نیز جذب بدن می‌شود . کلسترول در پلاسما وسط لیپوپروتئین‌ها که مجموعه از لیپیدها و آپولیپو پروتئین‌ها هستند حمل می شود لیپوپروتئین‌ها به ۴ دسته تقسیم می شوند .

۱) لیپو پروتئین‌هایی که با چگالی پایین LDL
۲) لیپو پروتئین‌هایی که با چگالی بسیار پایین VLDL
۳) لیپو پروتئین‌هایی که با چگالی بالا HDL
۴) شیلومیکرونها

LDL نقش انتقال کلسترول به داخل بافت‌ها و HDL عمل برداشتن کلسترول از بافت را بر عهده دارد. در مطالعات انجام شده رابطه ی نزدیکی میان LDL بالا در سرم افراد و بیماری کرنر قلبی و سایر انواع اترواسکلروز مشاهده شده است حتی در مواردی که مقدار کلسترول بالا باشد بالا بودن LDL نشان دادن خطر بیماری های فوق است. HDL برخلاف LDL عمل حفاظت و پیشگیری را از طریق برداشت کلسترول از بافت بر عهده داشته و بالا بودن HDL باعث کاهش ابتلاء به بیماری

هـای قلبـی مـی شـود در حـالی کـه پـایین بـودن سـطح HDL حتـی در صـورت نرمـال بـودن کلسـترول باعث افزایش خطر ابتلاء به بیماری های فوق می شود .

آزمایش ۱: اندازه‌گیری کلسترول سرم خون

وسایل و مواد مورد نیاز:

محلول استاندارد کلسترول ۱۰۰ میلی‌گرم درصد میلی‌لیتر کلروفرم، محلول اتر و الکل (یک حجم اتر و سه حجم الکل)، انیدرید استیک خالص، اسید سولفوریک خالص،کلروفرم، سانتریفوژ، لوله آزمایش، بشر، اسپکتروفتومتر، بن ماری جوشان

روش کار:

۱۰ میلی‌لیتر مخلوط اتر و الکل را در یک لوله سانتریفوژ ریخته ۰/۲ میلی لیتر سرم به آن اضافه نمائید. سپس دهانه لوله را بسته و یک الی دو دقیقه به شدت تکان داده و ده دقیقه به حال خود بگذارید و برای مدت پنج دقیقه سانتریفوژ نمائید. لوله را از سانتریفوژ خارج کنید و بدون آنکه رسوب موجود در ته لوله بهم بخورد محلول را با دقت در داخل یک بشر کوچک (T) خالی نمائید.

بشر را بر روی بن ماری جوش قرار دهید تا محلول تبخیر شود، سپس آن را بیرون آورید. بشر دیگری را با علامت S مشخص کنید و ۰/۵ میلی لیتر از محلول استاندارد کلسترول را در آن بریزید. دقیقاً ۶ میلی‌لیتر کلروفرم به بشر T و ۵/۵ میلی لیتر به بشر S اضافه کرده کاملاً مخلوط کنید. سپس به هر یک از دو بشر دو میلی لیتر انیدرید استیک اضافه و کاملاً مخلوط نمائید.

به هر یک از دو بشر ۰/۱ میلی لیتر اسید سولفوریک خالص اضافه کرده و کاملاً مخلوط نمائید. بشرها را برای مدت ۱۵ دقیقه در حرارت ۲۵ درجه (دمای آزمایشگاه) و در محل تاریکی قرار دهید تا رنگ کامل شود .

طول موج ۶۶۰ میلی میکرون را نتخاب کنید. با یک لوله حاوی کلروفرم (بلانک) جذب را صفر نمائید حال چگالی نوری محلول‌های بشر T و S را به ترتیب زیر خوانده، یادداشت کنید و در فرمول زیر قرار دهید.

$$\text{کلسترول سرم} = \frac{OD_T}{OD_S} \times 250$$

آزمایشگاه پیوشیمی ساختار
نبی‌پور