



Zachodniopomorski
Uniwersytet Technologiczny

BIOCHEMIA



Wydział Nauk o Żywności i Rybactwa

**Centrum Bioimmobilizacji
i Innowacyjnych
Materiałów Opakowaniowych**

ul. Kłemenasa Janickiego 35
71-270 Szczecin



Ćwiczenie 2

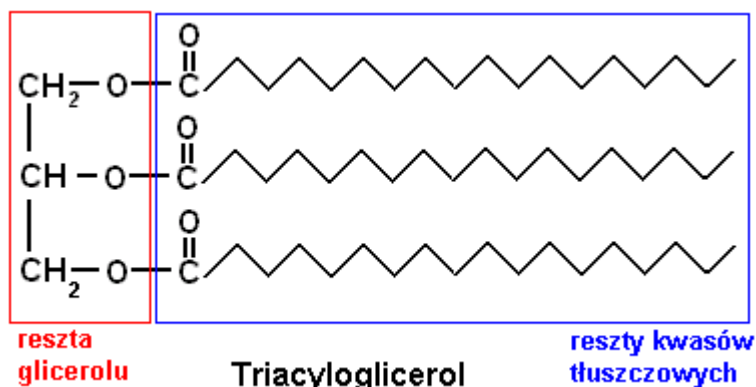
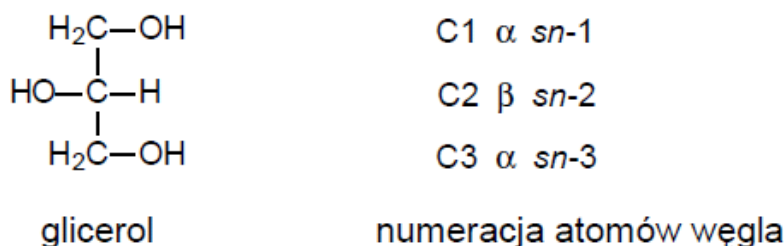
Lipidy (I)

Lipidy to naturalnie występujące organiczne cząsteczki izolowane z komórek i tkanek przez ekstrakcję niepolarnymi rozpuszczalnikami. Lipidy dzieli się na dwa podstawowe typy: **tłuszcze i woski**, które zawierają wiązania estrowe i mogą ulec hydrolizie oraz takie jak cholesterol i inne steroidy, które nie mają wiązań estrowych i nie ulegają hydrolizie.

Tłuszcze zwierzęce i oleje roślinne to najczęściej spotykane lipidy. Mimo, że fizycznie różnią się od siebie – tłuszcze zwierzęce, jak masło czy smalec, są ciałami stałymi, podczas gdy oleje roślinne, jak olej roślinny np. kukurydziany czy arachidowy są cieczami – ich struktury są bardzo podobne. Pod względem chemicznym tłuszcze zwierzęce i oleje roślinne są triacyloglicerolami (TAG - triglicerydy), triestrami glicerolu (gliceryny) z trzema cząsteczkami długołańcuchowymi kwasów karboksylowych. Hydroliza tłuszczu lub oleju wodnym roztworem NaOH daje glicerynę i trzy kwasy tłuszczowe.

Lipidy (tłuszcze) występujące w materiale biologicznym dzieli się na:
1) proste (tłuszcze właściwe, woski)

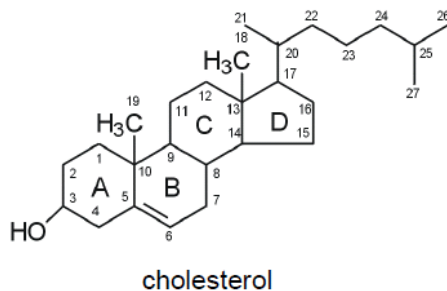
- **Tłuszcze właściwe** ze względu na swoją budowę chemiczną należą do estrów. Składnikiem alkoholowym jest trójwodorotlenowy alkohol – glicerol, CHOR. Składnikiem kwasowym – jednonakarboksylowe, wyższe kwasy tłuszczowe. Tłuszcze właściwe występujące w przyrodzie są najczęściej mieszaninami triacylogliceroli różnych kwasów tłuszczowych. Do nasyconych występujących najczęściej należą 16-węglowy kwas palmitynowy i 18 – węglowy kwas stearynowy. Z kwasów tłuszczowych nienasyconych, obecnych głównie w tłuszczach naturalnych pochodzenia roślinnego, należy wymienić kwas oleinowy, dwunienasycony kwas linolowy i trójnienasycony kwas linolenowy.



- **Woski** – estry wyższych alkoholi jednonakarboksylowych wyższych kwasów tłuszczowych. Woski naturalne, spełniające w przyrodzie rolę ochronną, to substancje niejednorodne, które obok estrów (woski) zawierają drobne ilości wolnych kwasów tłuszczowych, alkoholi, hydroksykwasów, estrów steroli, a także cukry. Z reguły alkohole i kwasy tłuszczowe wosków są związkami nasyconymi o dłuższych łańcuchach węglowych (od 26 do 42) niż kwasy tłuszczowe występujące w tłuszczach właściwościach.
- Trójacyloglicerole -są to estry gliceryny (glicerolu) i trzech kwasów tłuszczowych. Wraz z wolnymi kwasami tłuszczowymi są jednym z głównych materiałów energetycznych

zużywanym na bieżące potrzeby organizmu lub są też magazynowane jako materiał zapasowy w postaci tkanki tłuszczowej.

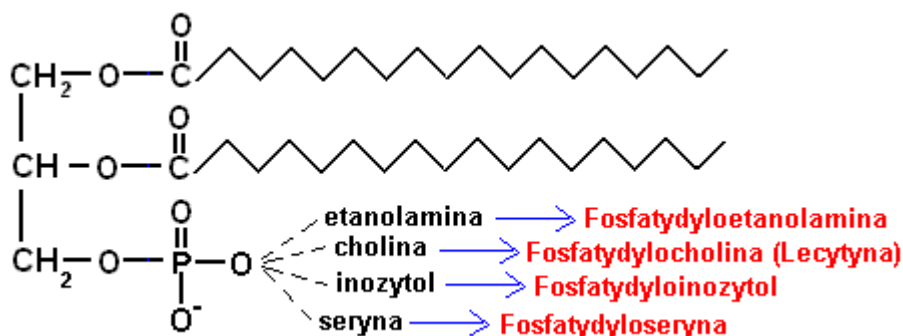
- **steroidy** – cząsteczki, których struktury oparte są na czteropierścieniowym układzie cyklicznym. Te cztery pierścienie oznaczamy A, B, C, D. U człowieka większość steroidów spełnia funkcję hormonów, chemicznych przekaźników sygnałów regulacyjnych organizmie. Wśród steroli – naturalnych alkoholi w grupie steroidów znaczące miejsce zajmuje cholesterol, który jest ważnym prekursorem syntezy hormonów sterydowych, kwasów żółciowych i witaminy D. Wraz z fosfolipidami uczestniczy on w tworzeniu błon biologicznych komórek zwierzęcych i roślinnych. W osoczu krwi cholesterol występuje jako składnik lipoprotein.



2) złożone

Lipidy złożone to materiał budulcowy u wszystkich komórek, głównie błon plazmatycznych, plazmatycznych także osłon włókien nerwowych. Występują szczególnie obficie w tkance nerwowej, krwi, limfie, wątrobie i żółtku jaj. Ze względu na obecność grup hydrofobowych, jak i polarnych grup hydrofilowych, hydrofilowych połączeniu z białkami tworzą błony półprzepuszczalne, które kontrolują penetracje związków do cytoplazmy i związków wewnątrzkomórkowych. Łączą je podobne właściwości fizykochemiczne i biologiczne. Jako związki powierzchniowo czynne obniżają napięcie powierzchniowe na granicy faz.

a) fosfolipidy (fosfoglicerydy), gdzie składnikiem alkoholowym jest glicerol, którego dwie grupy alkoholowe zekstryfikowane są długołańcuchowymi kwasami tłuszczowymi (w pozycji 2 przeważnie kwas nienasycony, a w pozycji 1 – nasycony), a trzecia kwasem fosforowym. Do tej grupy związków zaliczamy: fosfatydylocholinę (lecytynę), fosfatydyloetanolaminę (kefalinę), fosfatydyloinozytol, fosfatydyloserynę i sfingomielinę.



Typowymi przedstawicielami są **lecytyny** (fosfatydylocholina) oraz **kefaliny** (fosfatydyloetanoloamina i fosfatydyloseryna).

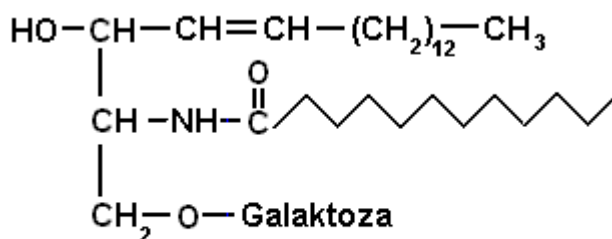
Lecytyny są mazistymi, higroskopijnymi substancjami barwy żółto-brunatnej, dobrze rozpuszczalnymi w eterze, etanolu i chloroformie. Fosfoglicerydy są głównym składnikiem lipidowym błon komórkowych (40%). Mają one długie, niepolarne „ogony” związane z polarną jonową „głową” (grupą fosforanową). Błony komórkowe składają się głównie z fosfoglicerydów ułożonych w podwójną warstwę lipidową o grubości ok. 50 Å. Hydrofobowe „ogony” agregują

wewnątrz warstwy podwójnej w sposób dość podobny do tego, w jaki cząsteczki mydła agregują w micelle. Taka warstwa podwójna stanowi efektywną barierę dla przejścia wody, jonów i innych polarnych składników do wewnątrz i na zewnątrz komórki.

b) glikolipidy

wiązki składające się zazwyczaj z połączenia alkoholu - sfingozyny i kwasu tłuszczowego, z dodatkiem jednej (cerebrozydy) lub większej liczby (gangliozydy) cząsteczek monocukru. Występują one w zewnętrznej części błon komórkowych i pełnią funkcję receptorowe. Szczególnie wysokie ich stężenie stwierdza się w mózgu.

Poniżej - główny cerebrozyd mózgu: galaktozyloceramid



Galaktozyloceramid

3) pochodne (kwasy tłuszczowe)

KWASY TŁUSZCZOWE - są to po prostu organiczne kwasy RCOOH z jedną grupą karboksylową (COOH) i nierozgałęzionym łańcuchem reszty węglowodorowej R zawierającej więcej niż 4 atomy węgla. Służą one jako bardzo dobre źródło energii dla komórek, która to pozyskiwana jest w procesach: beta-oksydacji, cyklu Krebsa i oddychania mitochondrialnego. Kwasy tłuszczowe możemy podzielić na:

Nasycone kwasy tłuszczowe - nie zawierające żadnych wiązań podwójnych pomiędzy atomami węgla w reszcie R. Przykładami są tu: kwas palmitynowy $\text{C}_{15}\text{H}_{31}\text{COOH}$ i kwas stearynowy $\text{C}_{17}\text{H}_{35}\text{COOH}$.

Nienasycone kwasy tłuszczowe (NKT) - zawierające jedno lub więcej wiązań podwójnych pomiędzy atomami węgla w reszcie R. Te pierwsze to kwasy jednonienasycone (np. palmitooleinowy, oleinowy), a te drugie - wielonienasycone (np. linolowy, alfa-linolenowy, arachidonowy, timnodonowy - EPA, cerwonowy - DHA).

Kwas oleinowy należy do serii omega-9, kwasy: linolowy i arachidonowy - do serii omega-6, a kwasy: alfa-linolenowy, EPA i DHA - do serii omega-3.

Organizm człowieka nie potrafi wyprodukować sobie "od zera" NKT serii omega-3 i omega-6. Potrzebuje do tego półproduktów: kwasu linolowego i alfa-linolenowego, które muszą być zawarte w diecie. Kwasy te występują obficie w olejach roślinnych.

EPA i DHA mogą też zostać bezpośrednio dostarczone do organizmu pod postacią rybich tranów.

Nazwa potoczna kwasu	Wzór chemiczny	Występowanie
Octowy	CH_3COOH	Tłuszcz z nasion
Masłowy	$\text{C}_3\text{H}_7\text{COOH}$	Masło, śmietana
Kapronowy	$\text{C}_5\text{H}_{11}\text{COOH}$	Masło, tłuszcze
Kaprylowy	$\text{C}_7\text{H}_{15}\text{COOH}$	Masło, tłuszcze
Kaprynowy	$\text{C}_9\text{H}_{19}\text{COOH}$	Masło, tłuszcze
Laurynowy	$\text{C}_{11}\text{H}_{23}\text{COOH}$	Oleje
Mirystynowy	$\text{C}_{13}\text{H}_{27}\text{COOH}$	Oleje, tłuszcze
Palmitynowy	$\text{C}_{15}\text{H}_{31}\text{COOH}$	Oleje, tłuszcze

Stearynowy	$C_{17}H_{35}COOH$	Oleje, tłuszcze
Arachidowy	$C_{19}H_{39}COOH$	olej arachidowy
Behenowy	$C_{21}H_{43}COOH$	olej arachidowy
Lignocerynowy	$C_{23}H_{47}COOH$	olej arachidowy
Cerytynowy	$C_{25}H_{51}COOH$	Wosk, lanolina
Melisynowy	$C_{29}H_{59}COOH$	Wosk pszczeli

Właściwości fizykochemiczne lipidów

Lipidy oraz związki pokrewne – steroidy i karotenoidy są nierozpuszczalne w wodzie. Rozpuszczają się w niepolarnych rozpuszczalnikach organicznych, jak benzen, chloroform, aceton, toluen i eter, a w mniejszym stopniu także w etanolu i metanolu. W lipidach rozpuszczają się związki o właściwościach hydrofobowych, tj. związki, które nie mają grup hydrofilowych lub zawierają ich niewiele. Barwniki np. Sudan III rozpuszczają się w tłuszczach. Tłuszcze są dobrym rozpuszczalnikiem dla witamin A, D, E i K. Tłuszcze, w których składa wchodzi nienasycone kwasy tłuszczowe mają zwykle płynną konsystencję, natomiast tłuszcze posiadające nasycone kwasy tłuszczowe mają postać stałą.

Tłuszcze nie rozpuszczają się w wodzie. Ulegają emulgacji przy zmniejszonym napięciu powierzchniowym przez detergent. W etanolu tłuszcze rozpuszczają się słabo. Bardzo dobrze rozpuszczają się w chloroformie.

Właściwości biologiczne lipidów

- w organizmie stanowią wydajne źródło energii, zarówno bezpośrednio jak i wtedy, gdy są odłożone w tkance tłuszczowej (ssaki przysypiające na zimę)
- służą jako izolator termiczny, gromadząc się wokół pewnych narządów (tłuszczowa warstwa podskórna)
- pełnia funkcję ochronną (torebka tłuszczowa nerki lub woski pokrywające liści i owoce)
- są izolatorami elektrycznymi pozwalając na szybkie rozprzestrzenianie się fal depolaryzacyjnych wzdłuż włókien nerwowych;
- w połączeniu z białkiem (lipoproteiny) stanowią ważne składniki komórkowe
- funkcja budulcowa (fosfolipidy i cholesterol w błonach biologicznych oraz w osłonkach mielinowych)
- funkcja regulacyjna (hormony sterydowe, witamina A i D, kwasy żółciowe)
- funkcja lecznicza (glikozydy)

Wykonanie ćwiczenia:

Do dwóch probówek dodać 4 ml wody destylowanej. Do pierwszej probówki dodać barwnik Sudan III, do drugiej fuksynę zasadową. Wymieszać zawartość probówek i zapisać obserwacje. Następnie dodać do probówek olej ok. 1 ml i wymieszać. Zapisać obserwacje i wnioski.

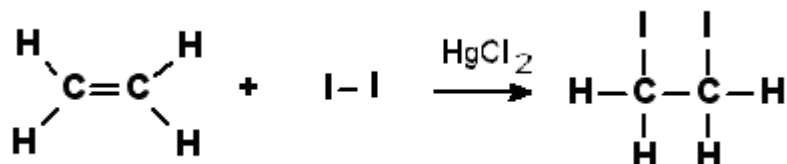
Wyjaśnienie:

Sudan III to czerwony barwnik disazowy rozpuszczalny w benzenie, acetonie i etanolu; długi, niepolarny łańcuch węglowodorowy wchodzący w skład tego barwnika, sprawia, że związek ten dobrze rozpuszcza się w tłuszczach.

Doświadczenie 4. Przyłączanie jodu do nienasyconych kwasów tłuszczowych – reakcja Hübla

Tłuszcze roślinne i zwierzęce różnią się rodzajem kwasów tłuszczowych, którymi zestryfikowany jest glicerol. Tłuszcze roślinne są związkami nienasyconymi, a więc estrami gliceryny i nienasyconych kwasów karboksylowych, natomiast tłuszcze zwierzęce to związki nasycone – estry gliceryny i nasyconych kwasów karboksylowych.

Zasada metody: podwójne wiązania kwasów tłuszczowych wysyca się przez przyłączenia 2 atomów jodu do dwóch atomów węgla tworzących wiązanie podwójne, w obecności katalizatora jakim jest sublimat (HgCl_2):



Materiały i odczynniki:

- kwas stearynowy
- kwas oleinowy
- olej roślinny
- roztwór I_2 w alkoholu – roztwór Hübla I
- HgCl_2 w alkoholu – roztwór Hübla II
- probówka szt. 3

Wykonanie ćwiczenia:

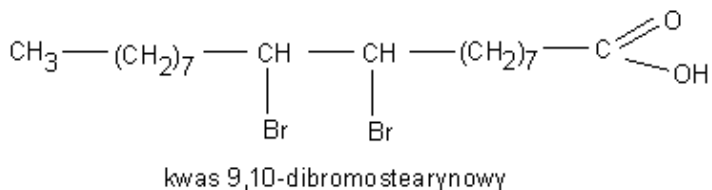
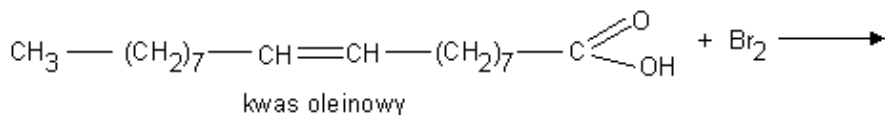
Do pierwszej probówki wprowadzić 0,2 g kwasu stearynowego, do drugiej 0,5 ml kwasu oleinowego a do trzeciej 0,5 ml oleju roślinnego. Do probówek dodać po 0,5 ml roztworu jodu w alkoholu (roztwór Hübla I), zamieszać zawartość probówek i umieścić je we wrzącej łaźni wodnej na 1 minutę.

Po wyjęciu probówek z łaźni dodać do nich po 10 kropeł roztworu HgCl_2 w alkoholu (roztwór Hübla II). Probówki ponownie umieścić we wrzącej łaźni wodnej i ogrzewać je przez 3 minuty. Zapisać obserwacje i wnioski.

Wyjaśnienie:

Jod łatwo przyłącza się w miejscu podwójnego wiązania, w wyniku czego brunatny roztwór jodu odbarwia się na skutek powstania bezbarwnego związku z organicznie związanym jodem.

Inną metodą pozwalającą na wykrycie wiązań podwójnych w tłuszczu jest użycie wody bromowej (jest to nasycony, wodny roztwór bromu o intensywnie żółtej barwie). Kwasy tłuszczowe zawierające wiązania podwójne przyłączając brom powodując odbarwienie wody bromowej.



Doświadczenie 5. Utlenianie wiązań podwójnych w nienasyconych kwasach tłuszczowych

Zasada metody: Wiązania podwójne łatwo ulegają utlenieniu pod wpływem tlenu z utleniaczy, a także, chociaż znacznie wolniej, pod wpływem tlenu atmosferycznego. Cząsteczka kwasu tłuszczowego, w miejscu podwójnego wiązania, ulega rozbiciu na 2 cząsteczki zawierające grupy aldehydowe.

Materiały i odczynniki:

- olej roślinny
- roztwór nadmanganianu potasu KMnO_4
- roztwór węglańku sodu Na_2CO_3
- probówka szt. 2

Wykonanie ćwiczenia:

Przygotować dwie probówki, do jednej wprowadzić 0,5 ml wody a do drugiej 0,5 ml oleju. Do obu probówek dodać 1 ml roztworu Na_2CO_3 oraz dwie krople roztworu KMnO_4 . Wstawić do wrzącej łaźni i ogrzewać przez 3 minuty. Obecność wiązań podwójnych powoduje odbarwienie nadmanganianu. Zapisać obserwacje i wnioski.

Doświadczenie 6. Otrzymywanie kompleksów mocznika z kwasami tłuszczowymi

Zasada metody: Wyższe kwasy tłuszczowe tworzą z mocznikiem kompleksy w postaci charakterystycznych kryształów.

Materiały i odczynniki:

- kwas octowy
- kwas stearynowy
- kwas oleinowy
- 15% metanolewy roztwór mocznika
- probówka szt. 3

Wykonanie ćwiczenia: Do trzech probówek wprowadzić po 1 ml metanolewego roztworu mocznika. Następnie do pierwszej probówki wprowadzić 3 krople kwasu octowego, do drugiej probówki wprowadzić 3 płatki kwasu stearynowego a do trzeciej probówki – 3 krople kwasu oleinowego. Probówki ogrzewać we wrzącej łaźni wodnej przez 1 minutę, w celu rozpuszczenia się kwasów. Następnie probówki wyjąć z łaźni wodnej i ostudzić je w strumieniu zimnej wody. Zapisać obserwacje i wnioski.

Lieratura:

1. McMurry John. Chemia organiczna. PWN, Warszawa, 2003.(tom IV i V)
2. Śmiechowska Maria, Przybyłowski Piotr. Chemia żywności z elementami biochemii. Akademia Morska w Gdyni, Gdynia 2004.
3. Hłyńczak A. J. Dziennik do ćwiczeń z biochemii. Wydawnictwo Naukowe Uniwersytetu Szczecińskiego, Szczecin, 2002.