كلية الصيدلة

الكيمياء الحيوية (١)

الجلسة العملية السادسة

الشحوم (٢)

الكشف عن الكوليسترول

❖ **أهداف الجلسة:**

١. **التعرف على التفاعلات النوعية للكشف عن الكوليسترول في محاليله.**

٢. **التعرف على تفاعل التصبن والذي يمكن أن يستخدم للكشف عن الحموض الدسمة وللتمييز بين الليبيدات القابلة للتصبن وذلك الغير قابلة للتصبن.**

❖ أولا: تفاعلات الكشف عن الكوليسترول:

الكوليسترول هو عبارة عن مركب ستيروئيدي له مصدران: خارجي عن طريق الغذاء الحيواني (الكبد، المخ، صفار البيض، السمك...) وداخلي عن طريق الاصطناع الحيوي له في خلايا الكبد بشكل رئيسي بدءاً من Acetyl Co A.

ينقل الكوليسترول في البلازما عن طريق البروتينات الشحمية Lipoproteins حيث يكون مرتبطاً مع البروتينات والفوسفوليبيدات وثلاثيات الغليسيريد لتشكيل بنية البروتين الشحمي.

يوجد الكوليسترول بشكلين: حر غير مؤستر يتركز على سطح الليبوبروتين وبشكل مؤستر مع الحموض الدسمة (حمض الزيت وحمض الشمع) يتركز داخل اللب الكاره للماء في الليبوبروتين، ويمثل الكوليسترول المؤستر ثلثي الكولسترول الكلي في البلازما.

يلعب الكوليسترول دوراً حيوياً هاماً في بناء وإصلاح الأغشية الخلوية وهو طليعة لاصطناع الحموض الصفراوية وفيتامين D والهرمونات ذات البنية الستيروئيدية.

❖ **التجارب العملية:**

التجربة رقم (1):

تفاعل ليبرمان للكشف عن الكوليسترول:

- **المبدأ:**

يعتبر تفاعل ليبرمان التفاعل النوعي للكشف عن الكوليسترول وله أهمية كبيرة في معايرة الكوليسترول في الدم.
يتفاعل الكوليسترول مع بلا ماء حمض الخل في وسط يحوي حمض الكبريت المركز فيتشكل مركب كبريتات الكوليسترولين ذي اللون الأخضر المزرق.

- **المواد المستعملة:**

✓ بلا ماء حمض الخل
✓ حمض الكبريت المركز
✓ محلول الكوليسترول 1% (يحل 1غ من الكوليسترول في 100مل من حمض الخل الثلجي)

- **طريقة العمل:**

١. ضع 2 مل من محلول الكوليسترول في أنبوب اختبار زجاجي جاف.
٢. أضف 1 مل من بلا ماء حمض الخل وامزجه جيداً.
٣. أضف 2 مل من حمض الكبريت المركز على جدران الانبوب وبهدوء.
٤. لاحظ تشكل لون زهري في البداية ثم لا يلبث أن يتحول تدريجياً إلى لون أخضر مزرق.

التجربة رقم (2):

تفاعل سالكوفسكي للكشف عن الكوليسترول:

- **المبدأ:**

يستخدم هذا التفاعل للكشف عن الكوليسترول في محلوله في الكلوروفورم وذلك باستخدام حمض الكبريت المركز حيث تتلون طبقة الكلوروفورم العلوية باللون الأحمر القاتم، أما طبقة الكبريت تتلون بلون أصفر وتألق أخضر.

- **المواد المستعملة:**

✓ محلول الكوليسترول في الكلوروفورم 1%

✓ حمض الكبريت المركز

- **طريقة العمل:**

١. ضع في أنبوب اختبار جاف ونظيف حوالي 2 مل من محلول الكوليسترول في الكلوروفورم.

٢. أضف بحذر على جدران الأنبوب الداخلي 0.5 مل من حمض الكبريت المركز.

٣. خض الأنبوب بلطف.

٤. لاحظ ظهور اللون الأحمر البنفسجي.

٥. سجل النتائج والملاحظات.

❖ ثانياً: تفاعل التصبن:

يعرف تفاعل التصبن Saponification بأنه تفاعل حلمهة الأسترات في وسط قلوي يؤدي لتشكيل الكحول وأملاح الحموض الدسمة التي تعرف بالصابون.

يكون الصابون الصوديومي مادة صلبة بينما الصابون البوتاسيومي فهو أقل صلابة وكلاهما قابل للذوبان في الماء، أما الصابون الكالسيومي فهو صلب وغير قابل للذوبان في الماء. ونستطيع استعادة الحمض الدسم بشكله الحر عن طريق التفاعل مع حمض قوي مثل HCL.

١ـ الشحوم المعقدة (القابلة للتصبن):

- ثلاثيات الغليسيريد
- الفوسفوليبدات
- السفينغوليبيدات
- الشموع

٢ـ الشحوم البسيطة (الغير قابلة للتصبن):

- التربينات
- الستيرولات والستيروئيدات
- البروستاغلاندينات

التجربة رقم (3):

تفاعل تصبن الغليسيريدات:

- **المبدأ:**

تخضع الغليسيريدات في الأوساط القلوية لتفاعلات حلمهة يتشكل بنتيجتها أملاح للحموض الدسمة التي تعرف بالصابون. يكون ذلك من خلال تسخين المادة الدسمة الحاوية على الغليسيريدات بوجود قلوي (هيدروكسيد الصوديوم أو البوتاسيوم).

- **المواد المستعملة:**

✓ محلول هيدروكسيد البوتاسيوم KOH أو هيدروكسيد الصوديوم NAOH

✓ زيت نباتي (زيت الزيتون)

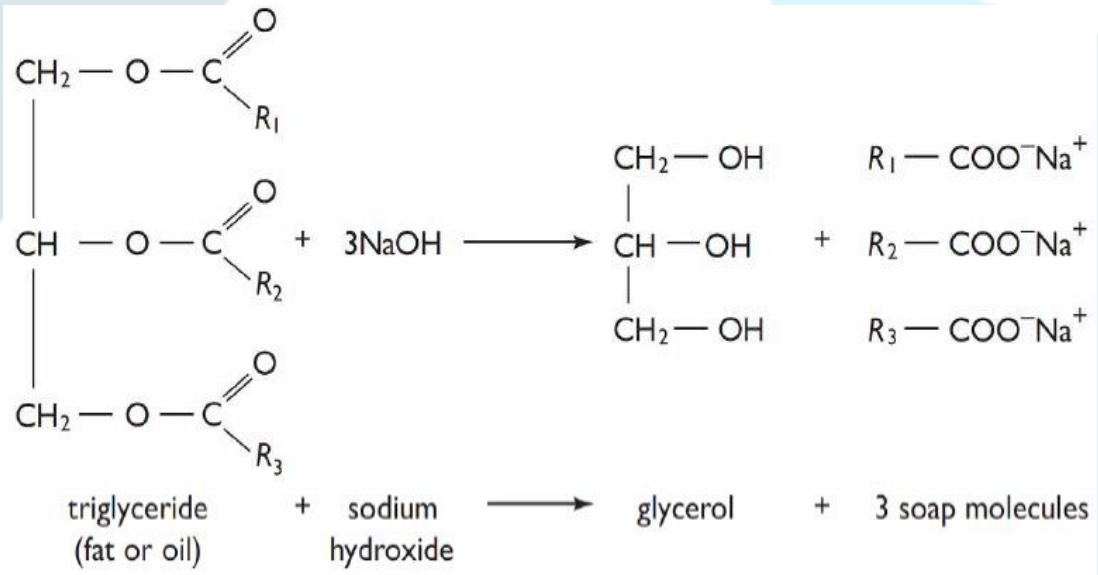
- **طريقة العمل:**

١. خذ في أنبوبي اختبار كبيرين نسبياً 1 مل زيت وأضف 10 مل من محلول هيدروكسيد البوتاسيوم إلى الأنبوب الأول و10 مل من محلول هيدروكسيد الصوديوم للأنبوب الثاني.

٢. امزج المحتويات وسخن المزيج في حمام مائي مع التحريك المستمر، استمر بالتسخين لمدة 20-15 دقيقة.

٣. لاحظ تشكل طبقة من الصابون على سطح المزيج.

٤. اترك المزيج يبرد وافصل الصابون بالإبانة واحفظه للتفاعلات التالية.



التجربة رقم (4):

الاختبارات على محلول الصابون:

١- خذ 3 مل من محلول الصابون في الماء في أنبوب اختبار وأضف إليه 2 مل من كلوريد الكالسيوم 5% ولاحظ تشكل راسب من الصابون الكالسيومي عديم الانحلال بالماء اكتب معادلة التفاعل الجاري.

٢- أضف إلى 3 مل من محلول الصابون في الماء نفس الحجم من كلوريد الصوديوم المشبع، لاحظ ترسب الصابون بسبب ضعف انحلاله في المحاليل الملحية وكأنه طرد من محلوله المائي.

٣- ضع 3 مل من محلول الصابون في أنبوب اختبار وأضف إليه 2 مل من محلول حمض كلور الماء، تأكد من أن الوسط حمضي من خلال ورقة عباد الشمس امزج محتويات الأنبوب واتركه جانباً لعدة دقائق لاحظ بعد ذلك تشكل طبقة من الحمض الدسم الحر قد انفصلت وتوضعت على سطح السائل اكتب معادلة التفاعل الجاري.