

### [Akceptuje](#)

W ramach naszej witryny stosujemy pliki cookies w celu świadczenia państwu usług na najwyższym poziomie, w tym w sposób dostosowany do indywidualnych potrzeb. Korzystanie z witryny bez zmiany ustawień dotyczących cookies oznacza, że będą one zamieszczone w Państwa urządzeniu końcowym. Możecie Państwo dokonać w każdym czasie zmiany ustawień dotyczących cookies. Więcej szczegółów w naszej [Polityce Prywatności](#)

[Portal](#) [Informacje](#) [Katalog firm](#) [Praca](#) [Szkolenia](#) [Wydarzenia](#) [Porównania międzylaboratoryjne](#)  
[Kontakt](#)



[Laboratoria](#)  
[.net](#)  
[Innowacje](#)  
[Nauka](#)  
[Technologie](#)

[Logowanie](#) [Rejestracja](#) [pl](#)

Newsletter

zapisz się



- [Nowe technologie](#)
- [Felieton](#)
- [Tygodnik "Nature"](#)
- [Edukacja](#)
- [Artykuły](#)
- [Przemysł](#)

[Strona główna](#) > [Artykuły](#)

## Oznaczanie cholesterolu i innych związków nierozpuszczalnych w wodzie

**Związki nierozpuszczalne w wodzie to grupa bardzo licznych związków chemicznych o najróżniejszej budowie. Mimo to, właściwości charakterystyczne tych związków pozwalają przeprowadzić ich analizę jakościową i ilościową w badanych próbkach.**

Jednym z najważniejszych, biologicznie czynnych związków nierozpuszczalnych w wodzie jest cholesterol, który jest przedstawicielem steroli zwierzęcych. Jest syntetyzowany przez większość narządów, jednak najobficiej powstaje w wątrobie i w ścianie jelit. Dominuje w błonach komórkowych i lipoproteinach osocza krwi. Cholesterol, dzięki obecności wiązania podwójnego, w obecności mocnych kwasów tworzy barwne produkty (próba Salkowskiego oraz

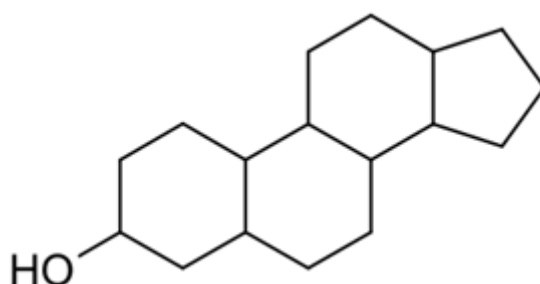
Liebermana-Burcharda).

## Wprowadzenie

Do związków nierozpuszczalnych w wodzie zalicza się lipidy, woski, tłuszcze właściwe oraz tłuszcze złożone oraz sterole. Związki te posiadają w swojej budowie glicerol i wyższe kwasy tłuszczowe lub sterole. Do grupy tych związków zalicza się wiele różnorodnych struktur chemicznych, których cechą charakterystyczną jest hydrofobowość i niepolarność cząsteczki. Najbardziej znanym związkiem nierozpuszczalnym w wodzie jest cholesterol należący do grupy związków zwanych sterolami [1].

## Sterole

W skład wszystkich steroli wchodzi układ czteropierścieniowy, zwany układem steroidowym.



Rysunek 1. Układ steroidowy

Powstają poprzez formalne podstawienie atomu węgla w pozycji 3 w szkielecie steroidu przez grupę hydroksylową. Sterole to zróżnicowana klasa związków i poza szkieletem węglowym przedstawianym powyżej (Rysunek 1) dla wszystkich steroidów (nazwa systematyczna szkieletu to: 1,2-cyklopentanoperhydrofenantrenu) oraz grupy hydroksylowej w pozycji 3 nie można u nich wyróżnić wspólnych cech. Najczęściej grupa hydroksylowa oprócz w pozycji 3 występuje w pozycji 17 steroidu [2].

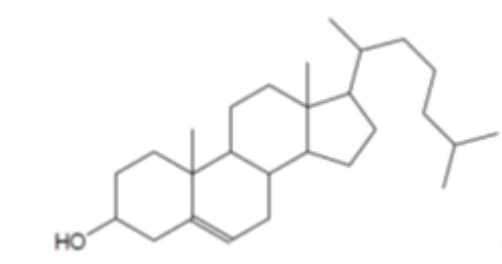
Grupa steroli	Pochodzenie	Przykład związków
fitosterole	rośliny	$\beta$ -sitosterol, stigmasterol, kampesterol i brassikasterol
zoosterole	zwierzęta	cholesterol, cholestanol, koprostanol,
mikosterole	grzyby	ergosterol
sterole syntetyczne	sztuczna produkcja	leki antykoncepcyjne i anaboliki

Tabela 1. Podział steroli ze względu na pochodzenie

Do najważniejszych steroli zwierzęcych należy cholesterol, będący istotnym składnikiem lipoprotein, błon komórkowych oraz prekursorem większości związków sterydowych występujących w organizmie, takich jak kwasy żółciowe i hormony sterydowe: androgeny, estrogeny, progesterony czy kortykoidy. Pewna część cholesterolu wchodzącego w skład błon biologicznych występuje w formie estrów z kwasami tłuszczowymi. Innym ważnym ale mniej znanym sterolem jest ergosterol, będący prekursorem witaminy D2 oraz 7-dehydrocholesterol – prekursor witaminy D3.

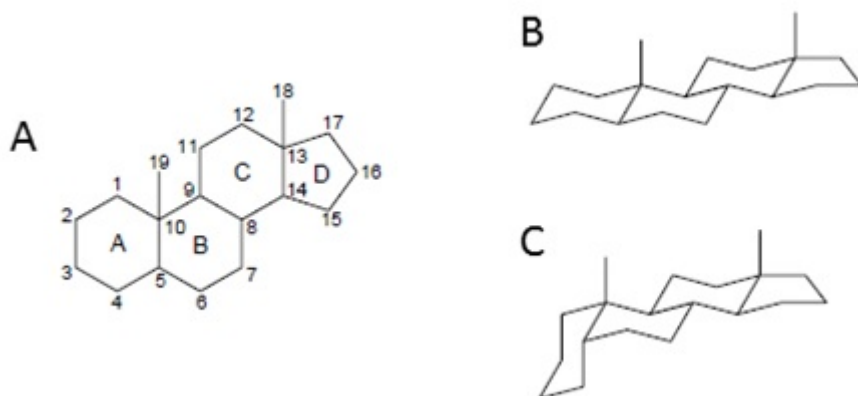
## Cholesterol

Cholesterol (dawna nazwa to cholesteryna) związek nierozpuszczalny w wodzie, jak już wspomniano należy do steroidów alkoholowych (posiada jedną grupę hydroksylową [1, 3]). Jak w przypadku innych steroidów, cząsteczka cholesterolu posiada 3 pierścienie sześciowęglowe (cykloheksanowe, jeden z nich zawiera też wiązanie podwójne) i czwarty pięciowęglowy (cyklopentanowy) - Rysunek 2.



Rysunek 2. Cząsteczka cholesterolu

Oznacza się je kolejnymi literami alfabetu łacińskiego odpowiednio A, B i C oraz D. Pierścienie sześciowęglowe, przedstawiane na rysunkach zazwyczaj w postaci sześciokąta foremnego, w rzeczywistości przyjmują konformację krzesłową.



Rysunek 3. Struktura przestrzenna pierścieni cholesterolu; A - układ steroidowy - numeracja węgli i oznaczenie pierścieni; B i C - najczęściej występujące struktury przestrzenne układu steroidowego

Niesie to za sobą pewne konsekwencje. Podstawniki w pierścieniu cykloheksanowego mogą być ułożone:

- ekwatorialnie (6 podstawników),
- aksjalnie (6 podstawnikowo dużym zagęszczeniu elektronowym)

Konformacja ta sprawia, że sąsiadujące pierścienie leżą zwykle aksjalnie oraz w położeniu trans względem siebie [3]. Grupy metylowe ułożone aksjalnie w położeniu  $\beta$ , zaś grupa hydroksylowa znajduje się w położeniu ekwatorialnym. Cząsteczka ta posiada osiem węgli chiralnych (C3, C8, C9, C10, C13, C14, C17, C20), czyli może posiadać aż 256 izomerów optycznych (wyliczenie z wzoru  $2^n$ , gdzie  $n$  - to liczba atomów chiralnych). Z czego 128 par enancjomerów. Ze względu, iż atomy te wchodzi w strukturę pierścieni, co wywołuje naprężenia steryczne w przyrodzie nie występuje aż tyle izomerów optycznych cholesterolu [3].

Cholesterol, jak i jego pochodne znajdują się w tratwach lipidowych błon komórkowych komórek zwierzęcych [4]. Pełni bardzo ważne funkcje w organizmie [5, 6]. Stanowi substrat do syntezy hormonów płciowych, witamin oraz kwasów żółciowych. Potocznie cholesterolem nazywa się obecne w osoczu krwi pokrewne substancje lipidowe - lipoproteiny, w skład których między innymi wchodzi

też cholesterol. Cholesterol dostaje się do organizmu drogą pokarmową, jak i biosyntezy de novo [2, 7]. Kumuluje się w tkankach i osoczu krwi, jego nadmiar jest przyczyną niewydolności układu krążenia.

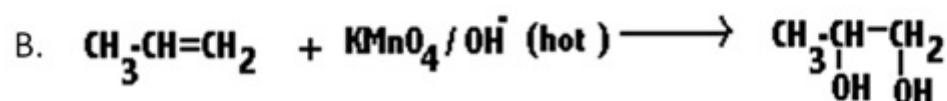
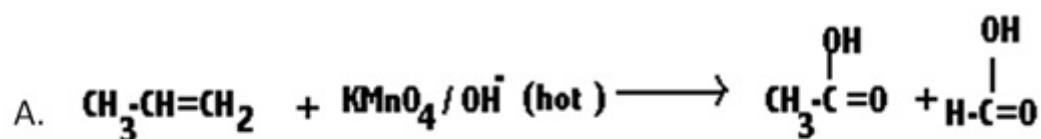
### Reakcje związków nierozpuszczalnych w wodzie [2, 8]

Do reakcji charakterystycznych dla związków nierozpuszczalnych w wodzie specyficzne są reakcje dla lipidów. Do reakcji tych zaliczamy:

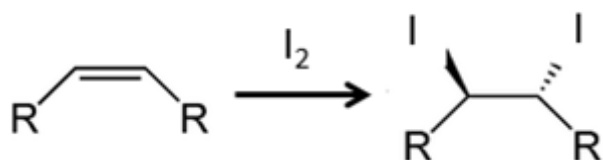
1. Wykrywanie gliceryny - jest to reakcja specyficzna organoleptyczna; przeprowadza się ją w środowisku słabo kwaśnym lub obojętnym, podczas ogrzewania, glicerydy ulegają rozpadowi z wytworzeniem lotnego aldehydu - akroleiny, o charakterystycznym zapachu; należy pamiętać, iż akroleina jest karcinogenna.
2. Zmydlanie tłuszczów - reakcja oparta na hydrolizie alkalicznej lipidów, w skutek, której powstaje gliceryna i sole wyższych kwasów tłuszczowych, czyli mydła. Reakcja ta polega na tworzeniu mydeł i wyznaczaniu tzw. liczby zmydlania, tj. liczby miligramów wodorotlenku potasu zobojętniającej kwasy tłuszczowe zawarte w 1g badanego tłuszczu. Właściwości mydeł bywają różne w zależności od metalu tworzącego sól: mydła będące solami litowców są rozpuszczalne w wodzie ale w reakcji z solami metali dwu- i trójwartościowych tworzą, na skutek wymiany, sole nierozpuszczalne. Mydła należą do związków powierzchniowo czynnych, tworzących koloidy
3. Wykrywanie wiązań podwójnych w związkach nierozpuszczalnych w wodzie

Obecność wiązań wielokrotnych C=C w związkach nierozpuszczalnych w wodzie jest związane z występowaniem w strukturze kwasów tłuszczowych. Zatem lipidy dają odczyn charakterystyczny dla związków nienasyconych:

- reakcja z roztworem nadmanganianu potasu - jest to reakcja kolorymetryczna; następuje zmiana barwy z purpurowej na bezbarwną w wyniku reakcji jonów  $MnO_4^-$  dochodzi do utlenienia wiązania podwójnego, w wyniku czego powstaje alkohol dwuhydroksylowy (B) lub następuje rozerwanie cząsteczki, czego rezultatem jest powstanie dwóch cząsteczek aldehydu (A).

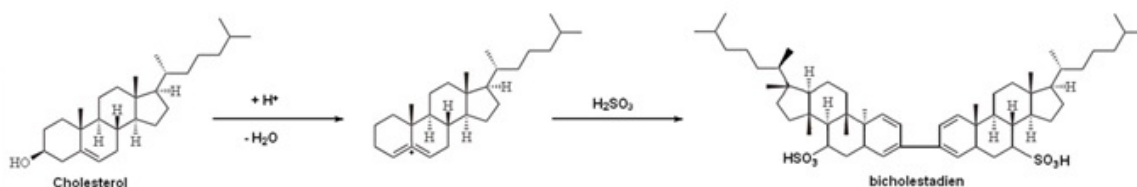


- odczyn Hübla - reakcja również kolorymetryczna, polegająca także na odbarwieniu roztworu; w reakcji z jodem dochodzi do addycji cząsteczki jodu do wiązania podwójnego, co prowadzi do powstania diiodopochodnej oraz powoduje odbarwienie roztworu jodu.



## Reakcje oznaczania cholesterolu

a. Odczyn Salkowskiego - pod wpływem stężonego kwasu siarkowego tworzą się produkty kondensacji, dehydratacji i sulfonowania cholesterolu. Powstałe produkty są intensywnie zabarwione, co umożliwiła identyfikację i oznaczenie ilościowe tego sterolu. Zmiana barwy jest spowodowana reakcją eliminacji dwóch cząsteczek wody i powstania czerwonego kwasu disulfonowego bicholestadienu.



b. Odczyn Liebermana-Burcharda - natomiast w obecności kwasu siarkowego i bezwodnika kwasu octowego tworzy się kwas monosulfonowy bicholestadienu

c. Reakcja cholesterolu z bromem

Odczyn Salkowskiego	Odczyn Liebermana-Burcharda	Reakcja z bromem
<ul style="list-style-type: none"> <li>W suchej probówce umieścić 1 mL chloroformowego roztworu cholesterolu</li> <li>Podwarstwić stężonym kwasem siarkowym.</li> <li>Warstwa chloroformowa barwi się na kolor malinowy, natomiast dolna warstwa wykazuje zieloną fluorescencję.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>W suchej probówce umieścić 1-2 mL chloroformowego roztworu cholesterolu.</li> <li>Dodać 5-6 kropli bezwodnika kwasu octowego i 2 krople stężonego kwasu siarkowego.</li> <li>Pojawia się czerwone zabarwienie, które szybko przechodzi w barwę zieloną.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Kilka kryształków cholesterolu rozpuścić w 2 cm<sup>3</sup> lodowatego kwasu octowego</li> <li>Dodawać roztwór bromu w kwasie octowym do momentu aż próbka przestanie się odbarwiać.</li> <li>Po chwili wydzieli się krystaliczny dibromocholesterol.</li> </ul>

Tabela 2. Wykonanie doświadczeń do oznaczania cholesterolu

## Podsumowanie

Przedstawicielem związków nierozpuszczalnych w wodzie jest cholesterol. Podobnie jak inne związki tej grupy rozpuszcza się w eterze, benzenie i innych rozpuszczalnikach organicznych. Sterole zawierające podwójne wiązanie w reakcji z mocnymi kwasami dają barwne produkty. Ślady wody uniemożliwiają te reakcje. Reakcje charakterystyczne dla cholesterolu należą do reakcji barwnych kolorymetrycznych, ponieważ powstałe pochodne sulfonowe tego związku są barwne: zielone w reakcji Liebermana-Burcharda i czerwone w reakcji Salkowskiego.

**Autor: Lidia Koperwas**

## **Literatura**

- [1] Jeremy M. Berg, Lubert Stryer, John L. Tymoczko. Biochemia. 2011. PWN
- [2] Błażej Gierczyk, Grzegorz Schroeder. Fizykochemiczne podstawy życia. 2001. Uniwersytet im. Adama Mickiewicza. Poznań
- [3] John McMurry: Chemia organiczna. Wyd. 4. Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN, 2000
- [4] Grądzka I, Sochanowicz B, Brzóška K, Wójciuk G, Sommer S, Wojewódzka M, Gasińska A, Degen C, Jahreis G, Szumiel I. Cis-9,trans-11-conjugated linoleic acid affects lipid raft composition and sensitizes human colorectal adenocarcinoma HT-29 cells to X-radiation. Biochim Biophys Acta. 2013
- [5] Smith LL. Another cholesterol hypothesis: cholesterol as antioxidant. Free radical biology & medicine. 1 (11), s. 47-61, 1991.
- [6] Haines TH. Do sterols reduce proton and sodium leaks through lipid bilayers? Progress in lipid research. 4 (40), s. 299-324, 2001
- [7] Kathleem M. Botham, Peter A. Mayes: Synteza, transport i wydzielanie cholesterolu. W: Robert K Murray, Daryl K Granner, Victor William Rodwell, Franciszek Kokot, Zenon Aleksandrowicz, Harold A Harper: Biochemia Harpera ilustrowana. Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 2008, s. 282-285.
- [8] Robert T. Morrison, Robert N. Boyd. Chemia organiczna. 2012. PWN

<http://laboratoria.net/artukul/18176.html>

**Informacje dnia:** [Jak poradzić sobie z końcem wakacji? Zalecenia w sprawie mpox są racjonalne i adekwatne](#) [Przydatność organów do przeszczepu](#) [Naukowcy zbadali, jak powstają nowe słowa w mediach społecznościowych](#) [Telefony komórkowe nie powodują nowotworów mózgu](#) [Ryzyko zawału i udaru mózgu u kobiet](#) [Jak poradzić sobie z końcem wakacji? Zalecenia w sprawie mpox są racjonalne i adekwatne](#) [Przydatność organów do przeszczepu](#) [Naukowcy zbadali, jak powstają nowe słowa w mediach społecznościowych](#) [Telefony komórkowe nie powodują nowotworów mózgu](#) [Ryzyko zawału i udaru mózgu u kobiet](#) [Jak poradzić sobie z końcem wakacji? Zalecenia w sprawie mpox są racjonalne i adekwatne](#) [Przydatność organów do przeszczepu](#) [Naukowcy zbadali, jak powstają nowe słowa w mediach społecznościowych](#) [Telefony komórkowe nie powodują nowotworów mózgu](#) [Ryzyko zawału i udaru mózgu u kobiet](#)

## **Partnerzy**