

LİPİTLER

Lipitler, suda çözünmeyen eter, benzen, kloroform gibi organik çözücülerde çözünen biyomoleküllerdir. En önemli görevleri;

(1) Hücre zarlarının yapısında yer alırlar. Zarlarda yapısal ve işlevsel bileşen olarak bulunurlar. Hücre yüzey reseptörleri ve kan grubu antijenleri olarak iş görürler. Madde akışını kontrol ederler.

(2) Enerji kaynağı ve deposu olarak görev alırlar. 1 g yağın oksidasyonu ile 9.3 kcal enerji elde edilir. Adipoz dokuda depolanan yağlar, enerji gerektiğinde yıkıma uğrarlar.

(3) Hormonlar ve vitaminler olarak görev yaparlar. Hormonlar, hücreler arası haberleşmede görev alırken, vitaminler, biyolojik süreçlerin düzenlenmesine yardım ederler. Elektron taşıyıcı, ışık emici, gibi çok özgün fonksiyonları olan tipleri vardır.

(4) Deri altında ve bazı organların çevresinde ısı yalıtıcısı ve koruyucusu olarak görev yaparlar.

(5) Özellikle sinir hücrelerinde elektriksel yalıtıcı olarak görev alırlar.

Heterojen bir bileşik sınıfı olan lipitler aşağıdaki gruplara ayrılır;

4.1. Trigliseritler (triacilgliseroller, nötral yağlar, yağlar)

Hem hayvansal yağlar, hem de bitkisel yağlar, yağ asitlerinin gliserol ile oluşturdukları oldukça kompleks esterlerdir. Bu esterlere '**gliserit**' adı verilir. Genelde yağların yapısı trigliserit biçimindedir. Trigliseritlerde gliserol ile esterleşen yağ asitlerinin üçü de aynı 'basit yağlar' olarak, farklı tür yağ asitleri bulunuyorsa 'karışık yağlar' olarak tanımlanırlar. Bitkisel yağlar, süt ürünleri ve hayvansal yağ gibi doğal yağların çoğu, basit ve karışık yağların kompleks karışımlarıdır. Bunlar, zincir uzunluğu ve doygunluk dereceleri farklı çeşitli yağ asitleri içerirler. Yağlar yüksek basınç altında su ile, normal basınç altında asitlerle kaynatılarak ya da lipaz gibi belirli enzimlerin katalitik etkisiyle hidrolize olarak gliserol ve yağ asitlerine parçalanırlar. Yağlar, kuvvetli bazlarla kaynatılırlarsa, sabun ve gliserol'e ayrılırlar.

4.2. Kolesterol

Kolesterol yaşam için gerekli olan hayvansal kökenli bir steroid'tir. Beyin, sinirler, kalp, bağırsaklar, kaslar, karaciğer başta olmak üzere tüm vücutta yaygın olarak bulunur. Vücut, kolesterolü kullanarak, hormon (kortizon, seks hormonu vb.), D vitamini ve yağları sindiren safra asitlerini üretir. Bu işlemler için kanda çok az miktarda kolesterol bulunması yeterlidir. Eğer kanda fazla miktarda kolesterol varsa, bu kan damarlarında birikir ve kan damarlarının sertleşmesine, daralmasına (arteroskleroz) yol açar. Arteriosklerozda damar duvarında kolesterolden başka akyuvarlar, kan pıhtısı, kalsiyum vb. maddeler de birikir. Toplumda arterioskleroz için damar sertliği, damar kireçlenmesi gibi ifadeler de kullanılmaktadır. Kolesterol hangi organın damarında birikirse o organa ait hastalıklar ortaya çıkar. Örneğin, kalbi besleyen atardamarlarda (koroner arterler) kolesterol birikimi olursa göğüs ağrısı, kalp krizi gibi sorunlar oluşur. Böbrek damarlarında kolesterol birikimi yüksek tansiyon ve böbrek yetmezliğine yol açabilir.

4.3 Keton cisimleri

Karaciğerde veya karaciğer dışındaki dokularda yağ asitlerinin yükseltgenmesinden meydana gelen asetil Co-A'ların büyük bir kısmı Krebs çevrimine girer. Karaciğer asetil Co-A'ların az bir kısmını da asetoasetik asit, 3-hidroksi bütirik asit ve aseton'a dönüştürür. Bu üç maddeye 'keton cisimleri' denir. Keton cisimleri periferik dokular tarafından kandan alınarak Krebs çevrimi ile CO₂ ve suya parçalanırlar. Dokuların keton cisimlerini sentezlemesine 'ketogenez', yıkımına ise 'ketoliz' denir. Metabolizmada normal şartlarda ketoliz ve ketogenez denge halindedir. Karaciğer, gereğinden daha fazla keton cisimleri yaparsa kanda keton cisimleri artar. Bu duruma 'ketonemi' denir. Uzun süreli açlık halinde ve şeker hastalığında özellikle aseton olmak üzere keton cisimleri idrara geçer. Bu duruma 'ketonüri' denir. Oluşan genel tablo 'ketozis' olarak adlandırılır. Keton cisimlerinin artışı kanın bazikliğini azaltır ve kan pH'sı düşer. Bu duruma 'asidoz' veya 'ketoasidoz' denir.

4.4. Deneysel Çalışmalar

Deney 4.1. Mısır Yağının Hidrolizi

Deneyin Prensipleri: Mısır yağı %15 doymuş, %85 doymamış yağ asidi karışımıdır. Yüksek oranda doymamış yağ asidi içerdiği halde, %0.1 oranında tokoferol içerdiği için mısır yağı

otooksidasyona karşı dayanıklıdır. Mısır yağının yağ asitleri hidrolizlenerek ortalama mol kütlesi bulunabilir. Aşağıdaki tepkimeler sonucunda alkol varlığında baz hidrolizinden sonra yağ asitleri gliserol ve tuzlardan ayrılır. Örnekteki yağ asidi mol kütlesinin NaOH ile titre edilerek hesaplanması esasına dayanır.

Deneyin yapılışı:

- (1) 0.25 g mısır yağı üzerine, 25 mL etil alkol (fenolftalein varlığında NaOH ile nötrleştirilmiş) ilave edilir. Hafifçe ısıtarak çözülür ve 0.1 N NaOH ile titre edilir.
- (2) Titrasyonda harcanan NaOH hacmi belirlenerek yağın mol kütlesi hesaplanır.

Ortalama mol kütlesi aşağıdaki formülden hesaplanır:

$$M_{\text{ort}} = \frac{\text{Örnek (g)}}{V_{\text{baz}} \times N_{\text{baz}}}$$

Deney 4.2. Yağlardaki Asit Değerinin Tayini

Deneyin Prensibi: Asit değeri yağ içinde serbest haldeki asit miktarını belirler. Buna göre; bir gram yağ içindeki serbest asiti nötrleştirmek için kullanılan KOH veya NaOH'in mg sayısı asit sayısını verir.

Deneyin yapılışı

- (1) Yaklaşık 0.5 mL sıvı yağ tartılır ve 15-20 mL alkol-eter (1:1 oranında) karışımında çözülür.
- (2) Çözünme işlemi tamamlandıktan sonra karışım bir spatül ucu fenolftalein indikatörü içeren 0.1 M KOH çözeltisi ile 5 sn dayanan açık pembe renk elde edilinceye kadar titre edilir. Harcanan KOH hacmine V_1 denir.
- (3) Başka bir erlene 15 mL alkol-eter çözeltisi (bir spatül ucu fenolftalein indikatörü içeren) konulur. Benzer koşullarda KOH çözeltisi ile titre edilir. Harcanan KOH hacmine V_2 denir. Eğer yağın ağırlığı W , KOH'in normalitesi N ve molekül ağırlığı 56.11 olarak alınır (KOH'in yerine NaOH kullanılırsa 56.11 katsayısı yerine NaOH'in mol ağırlığı olan 40 rakamı yazılır); $V_2 =$ yaklaşık 0.3 mL'dir.

$$\text{Asit Sayısı (Ax)} = \frac{V_1 - V_2}{W} \times 56.11 \times N$$

Deney 4.3. Serbest Yağ Asitleri Testleri

Deneyin prensibi: Yağlarda bulunan serbest yağ asitleri seyreltik alkali fenolftalein çözeltisinin pembe renginin kaybolmasına neden olur.

Deneyin yapılışı:

- (1) Bir tüp içinde kalıcı pembe renk elde edilene kadar seyreltik NaOH (0.1 M) çözeltisi ile fenolftalein çözeltisi dikkatlice karıştırılır.
- (2) Üç ayrı tüpte tereyağı, zeytinyağı ve oleik asit 2 mL eter ilavesi ile çözülür.
- (3) Bu tüplere damla damla hazırlanan alkali fenolftalein çözeltisi eklenir ve renk değişiklikleri gözlenir.

4.4. Kolesterol Tanımlama Deneyleri

Deney 4.4.1. Kolesterolün Salkowski Yöntemi ile Tanımlanması

Deneyin prensibi: Kolesterol, sülfürik asitle renk tepkimesi verir ve kırmızı renkli bir bileşik oluşturması esasına dayanır.

Deneyin yapılışı: Bir deney tüpüne 2 mL kloroform koyulur, üzerine bir spatül ucu kolesterol ilave edilir. Tüpteki çözelti üzerine dikkatlice 2 mL derişik H₂SO₄ ilave edilir. Oluşan tabakaların temas yerinde kırmızı halka ve açık yeşil renk gözlenir.

Deney 4.4.2. Kanda Kantitatif Kolesterol Tayini (Lieberman-Burchard Testi)

Deneyin prensibi: Kan veya serumdaki proteinlerin alkol-aseton karışımı ile çöktürülerek serbest kalan kolesterolün sülfürik asit ve asetik anhidrit ile esterleşmesi sonucu yeşil renk vermesi esasına dayanır. Kolesterol

Deneyin yapılışı:

- (1) Santrifüj tüpüne 10 mL alkol-aseton (1:1) karışımı koyulur, üzerine 0,2 mL kan veya serum ilave edilir. Tüp ağzı kapatılarak kaynar su banyosunda karışım kaynayınca kadar sallanır.
- (2) Tüp kaynar su banyosundan çıktıktan sonra 5 dk daha sallanır. Oda sıcaklığına gelene kadar soğutulduktan sonra 1500 devirde 5 dk santrifüjlenir.
- (3) Tüpün üst kısmındaki sıvı diğer bir tüpe aktarılır. Bu sıvıyı içeren tüp kaynar su banyosunda kuruyana kadar buharlaştırılır.
- (4) Tüp musluk suyu altında soğutulur. Çökelek üzerine 2 mL kloroform ilave edilerek çökeleğin tamamen çözünmesi sağlanır.

(5) Tüpe 2 mL asetik anhidrit-sülfürik asit karışımı ilave edilir ve tüpün ağzı parafilmle kapatılarak oda sıcaklığında karanlıkta bekletilir.

(6) Çözeltilerin absorpsansı 680 nm'de ölçülür.

Tüp No	Standart I	Standart II	Kloroform	Asetik anhidrit-Sülfürik asit karışımı
1	1 mL	-	1 mL	2 mL
2	2 mL	-	-	2 mL
3	-	1.5 mL	0.5 mL	2 mL
4	-	2 mL	-	2 mL
5 (Kör)	-	-	2 mL	2 mL

Hazırlanan tüplerin ağzı parafilmle sarılarak oda sıcaklığında karanlık bir yerde 10 dk. bekletilir. Standart I ve standart II kolesterol çözeltilerinden hazırlanan tüplerdeki kolesterol miktarları mg/dL olarak hesaplanarak elde edilen absorpsans değerlerine karşı grafiğe geçirilir. Seyreltme faktörü 4 alınmalıdır.

Çözeltiler

Stok kolesterol çözeltisi (2 mg/mL): 40 mg kolesterol 5 mL kloroformda çözülerek hacmi kloroform ilavesi ile 20 mL ye tamamlanır.

Standart I (0.1 mg/mL): Stok kolesterol çözeltisinden 1 mL alınarak kloroform ile hacmi 20 mL ye tamamlanır.

Standart II (0.2 mg/mL): Stok kolesterol çözeltisinden 2 mL alınarak kloroform ile hacmi 20 mL ye tamamlanır.

4.6. Keton Cisimlerini Tanımlama Deneyleri

Deney 4.6.1. Keton Cisimlerinin Lieben Yöntemi ile Tanımlanması

Deneyin prensibi: Asetonun alkali ortamda iyot ile iyodoform oluşturması esasına dayanır.

Deneyin yapılışı: Bir deney tüpüne 1 mL aseton ve damla damla 2 mL 2 N NaOH çözeltisi eklenir. Ardından 3 mL lugol çözeltisi koyularak karıştırılır. Tüpte sarı renkli çökelek oluştuğu gözlenir ve iyodoform kokusu alınır.

Çözeltiler :

Lugol çözeltisi: 5 g iyot ve 10 g KI, 100 g distile suda çözünür; 1/5 oranında seyreltilerek kullanılır.

2 M NaOH çözeltisi: 8 g NaOH alınır, distile su ile 100 mL'ye tamamlanır.

Aseton

Deney 4.6.2. Keton Cisimlerinin Legal Yöntemi ile Tanımlanması

Deneyin prensibi: Asetonun alkali ortamda sodyum nitroprussiyat ile kiraz kırmızısı renk oluşturması esasına dayanır.

Deneyin yapılışı: Bir deney tüpüne 5 mL aseton 1 mL %5'lik sodyum nitroprussiyat çözeltisi ve 2 mL %10'luk NaOH çözeltisi koyularak karıştırılır. Tüpteki karışımın kırmızı renk aldığı gözlenir. Tüpteki kırmızı renkli karışıma 1-2 damla asetik asit damlatılır; rengin mora dönüştüğü gözlenir.

Çözeltiler

%5'lik sodyum nitroprussiyat çözeltisi: 5 g sodyum nitroprussiyat alınır, distile su ile 100 mL'ye tamamlanır.

%10'luk NaOH çözeltisi: 10 g NaOH alınır, distile su ile 100 mL'ye tamamlanır.

KAYNAKLAR

- (1) Öztop, H.N. ve Candan, F. Biyokimya Laboratuvarı, Cumhuriyet Üniversitesi Yayınları, Sivas.
- (2) Fahrünnisa P. 2000. Biyokimya, Ankara.
- (3) Aktümsek, A. ve Nurullahoğlu, Z. Ü. Pratik Biyokimya, Nobel Yayınları, Ankara, Mart, 2007.