



# Analys av lipider i äggula med TLC

Inledning	<p>Lipider spelar en väsentlig roll i allt levande och har många biologiska funktioner. De kan t.ex. var reservnäring, skyddande och vattenavstötande funktion (vaxer), strukturella lipider i membran, budbärare mellan vävnader s.k. steroidhormoner, vitaminer mm. Vid en hälsoundersökning kan man analysera halten blodfetter och kolesterol i blodet. Varken för höga eller för låga halter är bra.</p> <p><b>Uppgift:</b> Du ska separera lipiderna i äggula och identifiera dessa med några referenser. Lipider innefattar både lipofila och hydrofila ämnen. Neutrallipider och fosfolipider kan separeras med hjälp av tunnskiktskromatografi och lämpligt elueringsmedel.</p>
Material	<p>Lösning av äggula = 1 volym äggula och 5 volymer 5% NaCl-lösning.          2-propanol, petroleumeter (eller heptan),          Referenslösningar: 0,2% av lecitin, kolesterol, en triglycerid (veg.olja), alla lösa i petroleumeter.          Centrifug, TLC-platta (kiselgel) och kromatografikärl, kapillärrör          Mobilfas: petroleumeter: dietyleter: ättiksyra (75:25:1)          Framkallningsvätska: 5% ammoniumsulfatlösning          Ugn 150-160°C</p>
Riskbedömning	<p>Organiska lösningsmedel är brandfarliga: <i>En fullständig riskbedömning ges av undervisande läraren.</i></p>
Utförande	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Tag 1 cm<sup>3</sup> äggulelösning och 1,5 cm<sup>3</sup> 2-propanol i ett litet centrifugrör med kork (helst skruvkork). Tillsätt 1cm<sup>3</sup> petroleumeter, skaka ordentligt och centrifugera isär faserna.</li> <li>2. Klipp till en kiselgelplatta som passar kromatografikärlet. Markera en svag linje ca 1-2 cm från kanten och markera för 4 fläckar. Gör i ordning kromatografikärlet med den rörliga fasen och låt jämvikt inställt sig.</li> <li>3. Tag ca 10 µl av äggulelösningens övre fas (petroleumeter) med ett kapillärrör och applicera på tunnskiktspattan. Sätt på referenserna lecitin, kolesterol, och triglycerid. Sätt ner plattan i kromatografikärlet.</li> <li>4. Markera vätskefronten och torka plattan i dragskåp. Spraya på 5% ammoniumsulfatlösning eller påför försiktigt med en pipett. Placera plattan i ett värmeskåp för framkallning i ca 30 minuter. Kontrollera då och då. för bästa framkallning Räkna ut R<sub>f</sub>-värden.</li> <li>5. Vilka lipider finns i äggula. Vilken finns det mest resp. minst av? Varför har ämnena olika R<sub>f</sub>-värden. Titta på formlerna och ge en förklaring</li> </ol>

## Till läraren

Underlag för  
riskbedömning

**2-propanol:** Fara, Brandfara, Skadlig, , H225 Mycket brandfarlig vätska och ånga. H319 Orsakar allvarlig ögonirritation. H336 Kan göra att man blir dåsig eller omtöcknad. P210, P233, P240, P241, P242, P243, P261, P264, P271, P280, P304+P340, P312, P337+P313, P370+P378, P403+P233, P403+P235, P405, P501

**Petroleumeter:** Fara, HälsOfara, H340 Kan orsaka genetiska defekter, H350 Kan orsaka cancer. P201, P202, P280, P308+P313, P405, P501

**Heptan:** : Fara, Brandfara, HälsOfara, Skadlig, Miljöfara, H225 Mycket brandfarlig vätska och ånga. H304 Kan vara dödligt vid förtäring om det kommer ner i luftvägarna. H315 Irriterar huden. H411 Giftigt för vattenlevande organismer med långtidseffekter. P210, P233, P240, P241, P242, P243, P264, P273, P280, P301+P310, P302+P352, P321, P331, P332+P313, P362 + P364, P370+P378, P391, P403+P235, P405, P501

**Lecitin, kolesterol, en triglycerid** (veg.olja) ej märkespliktiga,

Dietyleter: Brandfara, Skadlig, Fara, EUH019 (explosiva peroxider) EUH 066(Torr) P261

**Ättiksyra(konc):** Fara, Frätande, Brandfara, H226 Brandfarlig vätska och ånga. H314 Orsakar allvarliga frätskador på hud och ögon. P210, P233, P240, P241, P242, P243, P260, P264, P280, P304+P340, P310, P321, P363, P370+P378, P403+P235, P405, P501

**Ammoniumsulfatlösning, 5%:** ej märkespliktigt

Teori

**Till läraren:** Det kan vara svårt att framkalla fläckarna om plattan ligger direkt på en ugnsplåt. Sätt in några porslinsdegler i ugnen som tunnskiktsp Plattorna kan ligga på. Lecitin rör sig inte mycket, kolesterol kommer halvvägs och triglyceriderna finns längs fronten.

R<sub>f</sub>-värden i heptan:dietyleter:ättiksyra

R<sub>f</sub> (lecitin)= 0,21

R<sub>f</sub> (kolesterol)=0,64

R<sub>f</sub> (triglycerider)=1,0

Försök från [www.mnsfld.edu](http://www.mnsfld.edu)