#### Plan du cours

- 1. Introduction-généralités
- 2. Classification des lipides

## 3. Propriétés physico-chimiques des lipides

- 1. Solubilité
- 2. Température de fusion
- 3. Indice d'iode
- 4. Indice de saponification
- 5. Oxydation des lipides
- 6. Hydrogénation
- 4. Techniques d'analyse des lipides
- 5. Transport des lipides dans l'organisme
- 6. Rôle biologiques des lipides (hors stéroïdes)

## III. Propriétés physico-chimiques des lipides\_solubilité

Queue hydrophobe

#### Solubilité



Solvant polaires

4-6 Carbones: soluble à faible

concentration

Acide Hexanoïque: 1.082g/100g d'eau

Acide Octanoïque: 0.068g/100g d'eau

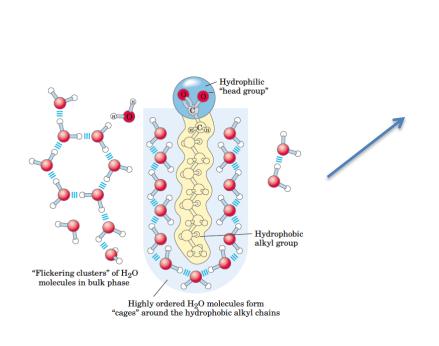
Acide Décanoïque: 0.015g/100g d'eau

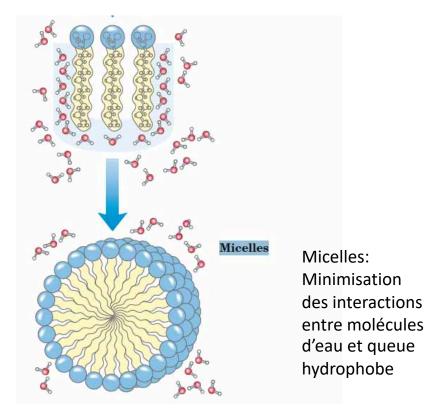
n>12: solvant apolaire uniquement

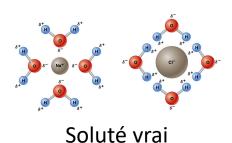
Chloroforme, benzène, éther

**Polaire** 

Solubilité







Minimisation des interactions chaînes carbonées/eau

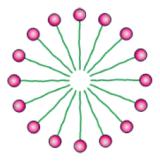
Solubilité

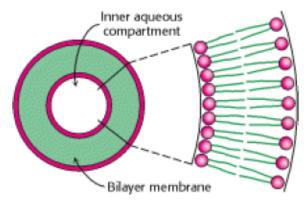
<u>Phospholipides</u>: Tête polaire plus importante+2 acides gras

Formation de <u>bicouches</u>

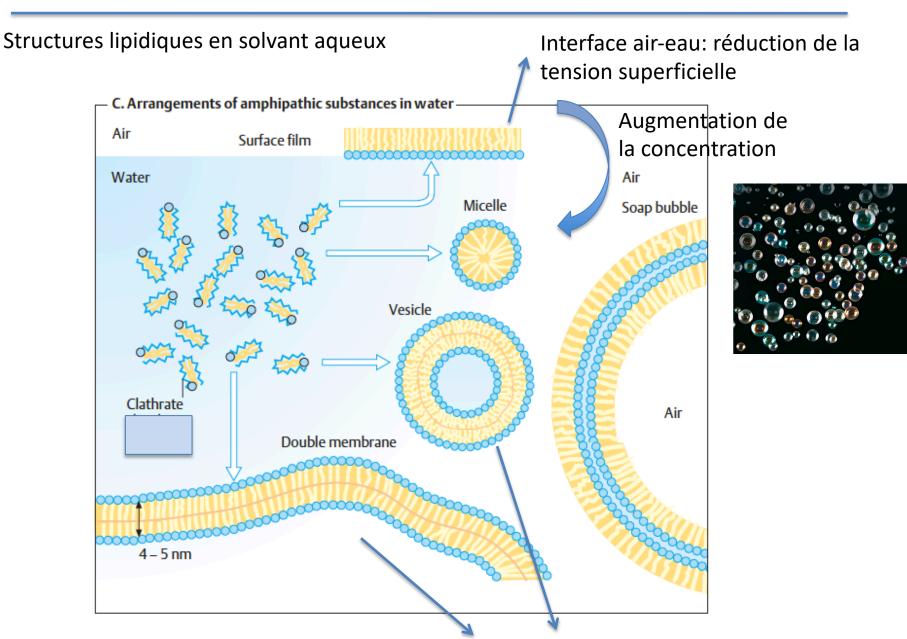
Micelles (20nm)

Bi-couche (liposomes) (jusqu'à 10μm)





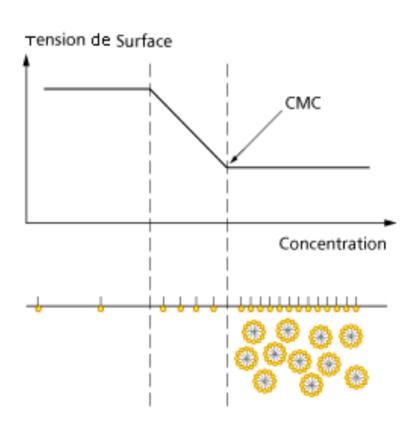
Les membranes biologiques sont des bi-couches (cf Rôles biologiques des lipides).

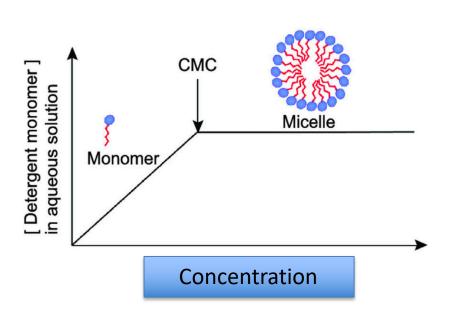


Phospholipides : formation de bicouches lipidiques

Concentration micellaire critique (CMC)

Concentration au-delà de laquelle les micelles se forment



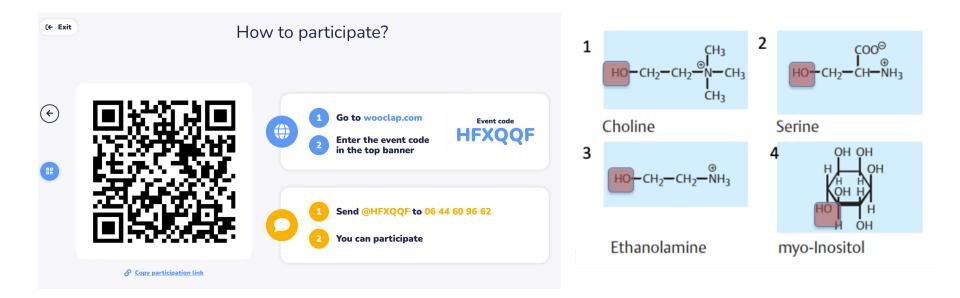


## Concentration micellaire critique (CMC)

A une température donnée :

- 1. Pour une même tête polaire, la CMC diminue quand la longueur de la chaîne carbonée augmente
- 2. CMC augmente avec la polarité de la tête polaire

		Lipid	CMC (mM)		
7C		5:0 PC	90		
		6:0 PC	15		/1000
		7:0 PC	1.4		
		8:0 PC	0.27		
		9:0 PC	0.029		
		10:0 PC	0.005		
		12:0 PC	90 nM		
		14:0 PC	6 nM		
		16:0 PC	0.46 nM		
			I .	1	



Question: Quelles sont les molécules les plus polaires ?

Est ce qu'il faut connaître les structures des vitamines D2 et D3 pour l'examen ?

NON

Faut-il connaitre les détails de la production des DHA et EPA? NON

Le monoacylglycerol est forcément sur le 1 carbone ?

NON

Est ce que l'acide y-Linoléique est consideré comme un acide gras essentiel?

Quand on passe de linoleique à linolenique on met delta 9- delta 12 - delta 15 ou juste delta 15 ?

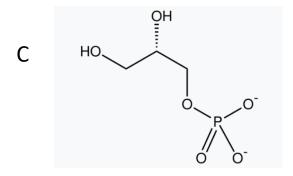
Je n'ai pas compris pourquoi c'est "tétracosanoïque" pour l'acide cérébronique

Pourquoi est ce que pr les terpènes il y a certaines ramifications qui vont vers le bas et d'autres vers le haut?

22	docos-
24	tétracos-
26	hexacos-
00	catacaa

Comment on sait quel carbone est le 1 dans le cas d'un acylglycerol hétérogène ? Car on peut compter a partir des deux bouts du glycerol car il est symétrique

L-Glycerol 3-phophate



D

## Structures lipidiques en solvant aqueux

- Formation de la bi-couche des membranes cellulaires (cf rôles biologiques des lipides)

- Utilisation des propriétés de tensio-actifs/émulsifiants des lipides

Détergents ménagers

Emulsifiants (lécithines..)

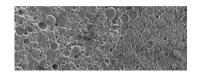
Cuisine, émulsifiant alimentaire (E322, lécithine de soja)

Sels biliaires (cf rôles biologiques des lipides).

Surfactants pulmonaires

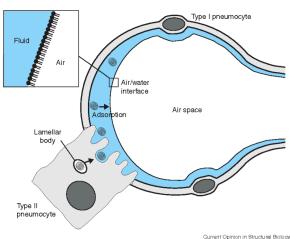
Liposomes thérapeutiques (cf rôles biologiques des lipides)





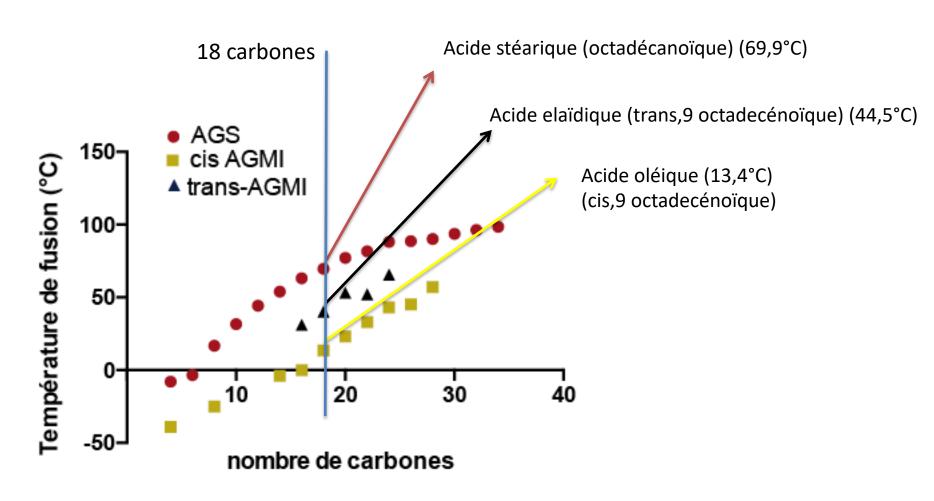
## Surfactant pulmonaire

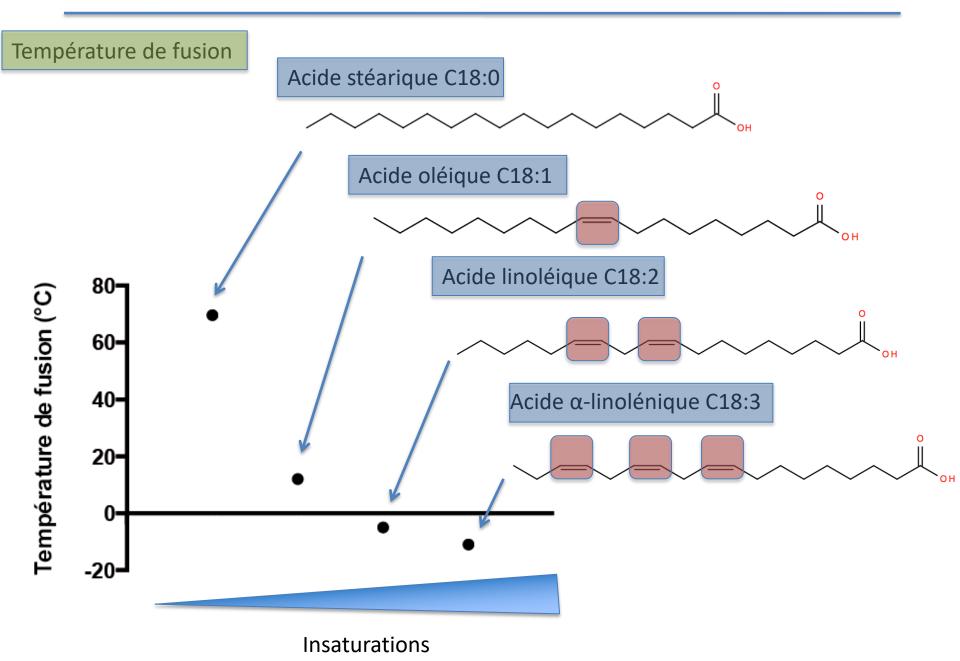
- 90% de lipides (dipalmitoyl-phosphatidylcholine, cholesterol) et 10% de protéines (SP-A;SP-B;SP-C;SP-D).
- Produit par les pneumocytes de type II
- Réduit la tension superficielle air-liquide à la surface des alvéoles pulmonaire.
- Détresse respiratoire du nouveau-né prématuré (immaturité pulmonaire et défaut de surfactant).
- Maladies génétiques rares: mutations qui entraînent des défauts du surfactant



#### Température de fusion

Elle dépend de la longueur de la chaîne carbonée, de son état de saturation





Huile de tournesol (composition en AG):

TAG composés de

Acide Linolénique (C18:3) 67% Acide Oléique (C18:2) 19%

88% d'AGI

Acide Palmitique (C16:0) 6% Acide Stéarique (C18:0) 5%



Beurre (% des AG):

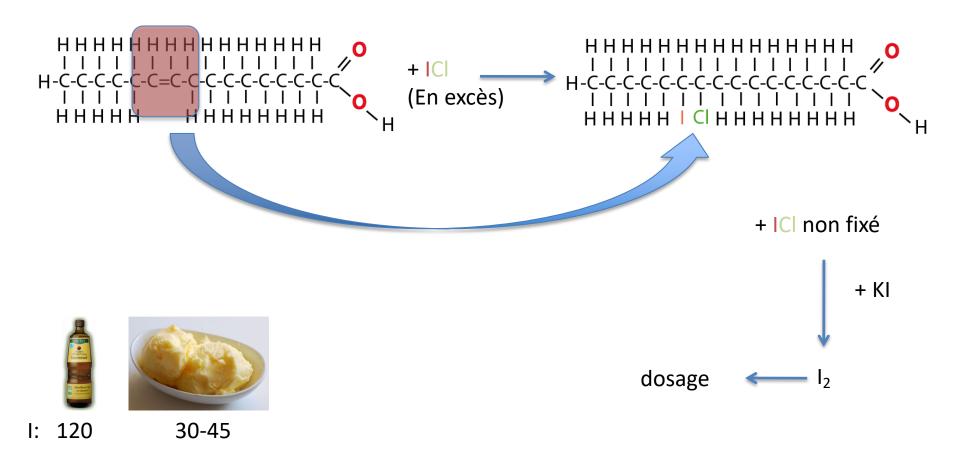
Acide Palmitique (C16:0) 21,7%
Acide Stéarique (C18:0) 10%
Acide Laurique (C12:0) 2,59%
Acide Butyrique (C4:0) 3,23%
Acide Caprique (C10:0) 2,53%
Acide Caproïque (C6:0) 2%
Acide Caprylique (C8:0) 1,19%
Autres acide gras saturés

63 % d'AGS

Acide Oléique (C18:1) 19,96%



**Indice d'iode** d'un lipide = masse de diiode ( $I_2$ ) en grammes capable de se fixer sur les insaturations de 100g de corps gras (équivalent de la valeur en cg/g).



Indice d'iode + masse molaire = détermination du nombre de double liaison

## III. Propriétés physico-chimiques des lipides\_Indice d'iode

#### Indice d'iode

Une mole de corps gras ayant une insaturation réagit avec une mole de  $I_2$  100 g d'un corps gras de masse molaire  $M_{ag}$  correspondent à (100/ $M_{ag}$ ) moles et réagissent avec  $I_{ag}/M_{I2}$  moles d' $I_2$ .

Donc par définition:  $I_{ag}/M_{12} = 100/M_{ag}$ 

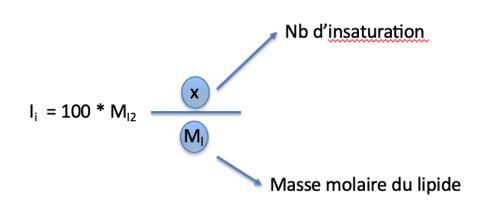
Donc si une insaturation:  $I_{ag} = (100/M_{ag}) * M_{I2}$ 

## III. Propriétés physico-chimiques des lipides\_Indice d'iode

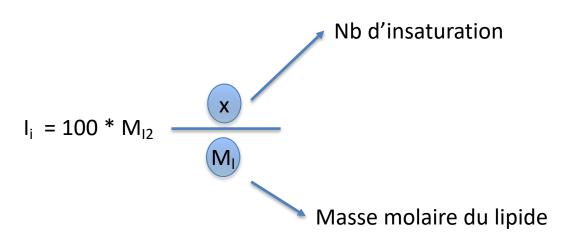
Pour un acide gras saturé: 0

Pour un acide gras insaturé:

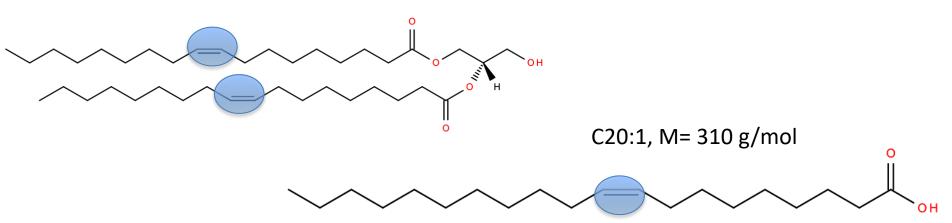
Soit x le nombre de double liaison et I l'indice d'iode 100g d'acide gras =  $100/M_{ag}$  moles  $I = (100/M_{ag}) * x*M_{I2}$ 



## III. Propriétés physico-chimiques des lipides\_Indice d'iode



DAG (C18:1, C18:1) M=620g/mol



#### Saponification

Savon=sel de potassium et de sodium d'acide gras

Obtenus par traitement alcalin des lipides = saponification (hydrolyse en milieu alcalin des liaisons esters).

$$R - C + HO - R + HO - R$$
ester ion hydroxyde ion carboxylate Alcool

<u>Indice de saponification</u> = Quantité de potasse (KOH) (en mg) nécessaire pour saponifier 1g de matière grasse (ester d'AG).

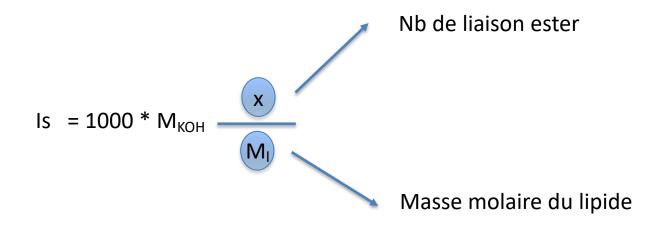
Exemple Indice de saponification

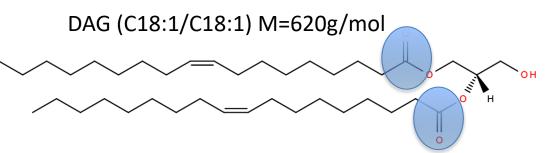
Réaction équimolaire: une mole de KOH par « mole de liaison ester »

Un gramme =  $1/M_{ester}$  mole d'ester

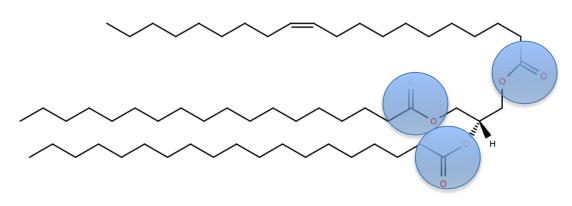
Si une seule liaison ester dans le lipide:

Nombre de mole de KOH nécessaire





TAG TG(18:0/19:0/20:1(11Z)) M=930 g/mol



# Saponification

Huile d'olive  $I_s = 190 \text{ (mg)}$ 

1 kg (1000g) d'huile d'Olive + 190 g KOH





Savon d'ALEP



Savon surgras

Corps gras en excès par rapport à l'agent caustique

Corps gras qui « reste » et n'est pas saponifié...

## Plan du cours

- Introduction-généralités
- 2. Classification des lipides
- 3. Propriétés physico-chimiques les lipides

## 4. Techniques d'analyse des lipides

- 1. CCM (Chromatographie sur couche mince)
- 2. Chromatographie en phase gazeuse
- 3. HPLC
- 4. Analyse lipidomique
- 5. Transport des lipides dans l'organisme
- 6. Rôle biologiques des lipides (hors stéroïdes)
- 7. Métabolisme des TAG et phospholipides

## A partir d'un échantillon complexe:

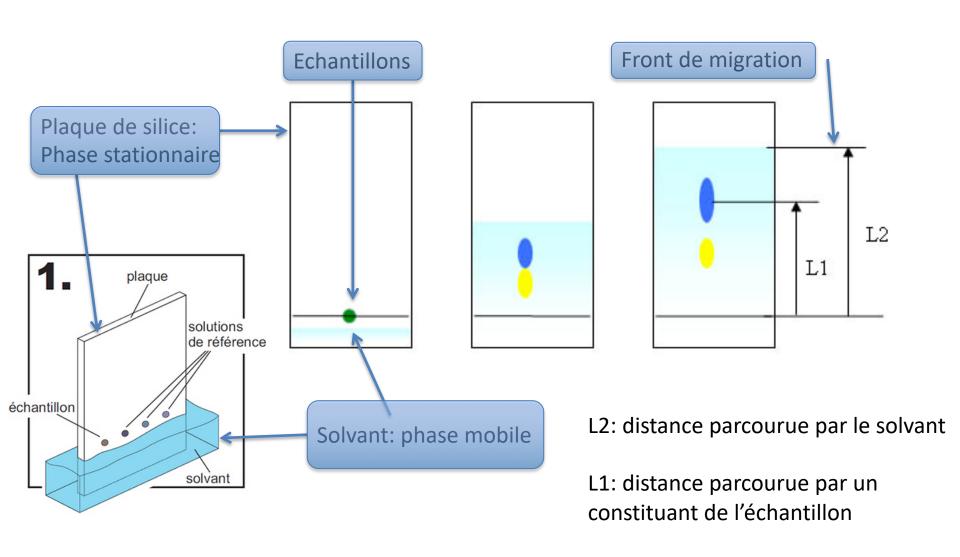
Séparer : Chromatographie.
 phase mobile/phase stationnaire
 (affinité relative des constituants à séparer)

CCM Chromatographie couche mince CPG Chromatographie en phase gazeuse HPLC High Pressure liquid chromatography

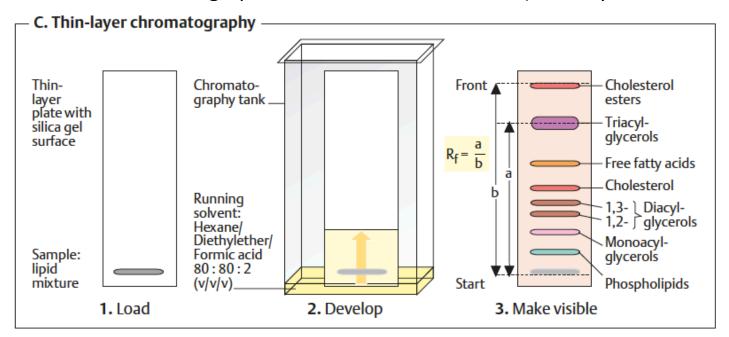
2. <u>Identifier</u>: Par rapport à un standard connu En spectrométrie de masse

#### Principe

Chromatographie sur couche mince=CCM (Thin Layer Chromatography TLC)



Chromatographie sur couche mince=CCM (Thin Layer Chromatography TLC)



Esters de cholesterol TAG Acide Gras libre Cholesterol Di-acyl glycérol Mono acyl glycerol Phospholipides

Phase stationnaire: plaque de silice

Phase mobile : mélange de solvants (plus ou moins polaires)

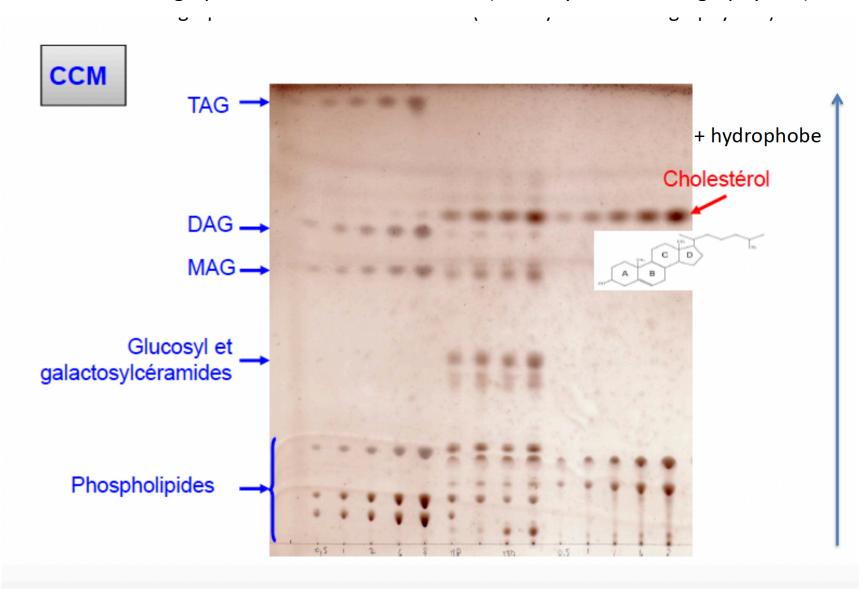
Séparation en fonction de la solubilité différentielle pour les deux phases

Distance parcourue par le lipide à identifier

Facteur de rétention (Rf)=

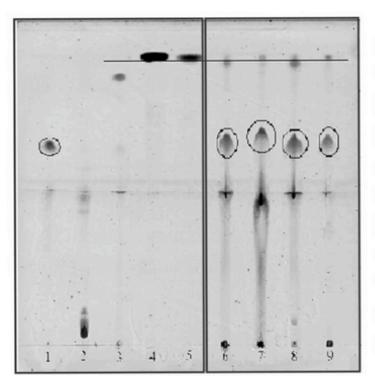
Distance parcourue par le solvant

Chromatographie sur couche mince=CCM (Thin Layer Chromatography TLC)



Chromatographie sur couche mince=CCM (Thin Layer Chromatography TLC)

#### Utilisation de références



#### Références

1: acide gras (C22:6)

2 : phospholipide (phosphatidylcholine)

3 : triglycéride (trioléine)

4 : cholestérol (ester de cholestérol)

5 : cire (oléate d'oléyle)

#### **Echantillons**

6 : graisse de vertèbre CRMM (surface)

7 : graisse de rorqual Muséum (surface)

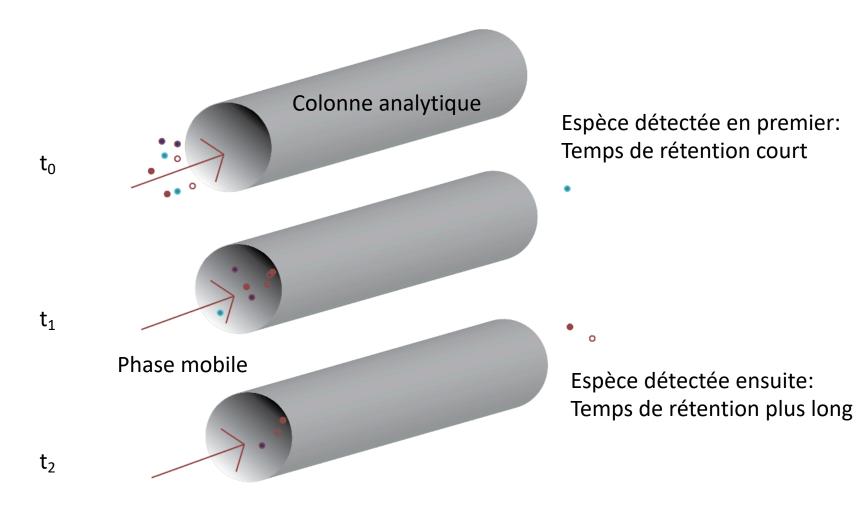
8 : graisse de vertèbre CRMM (à coeur)

9 : graisse de rorqual Muséum (à coeur)

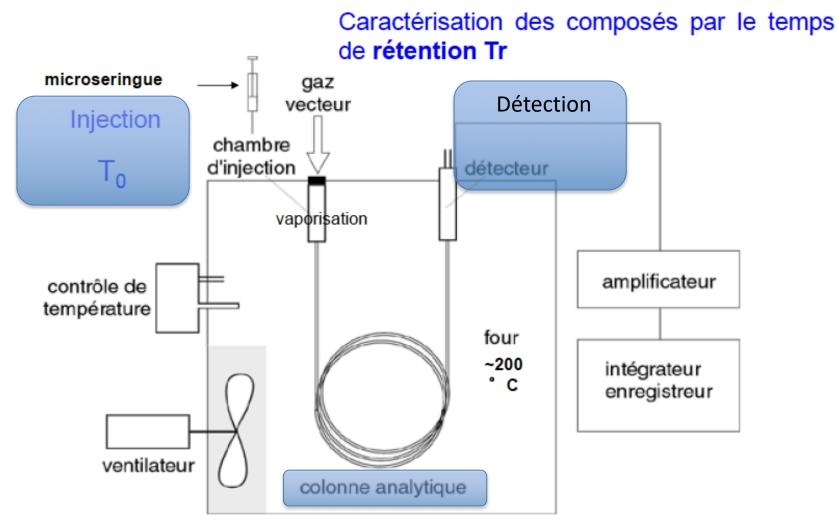
Echantillons de références

Echantillons à analyser

Chromatographie sur colonne: principe



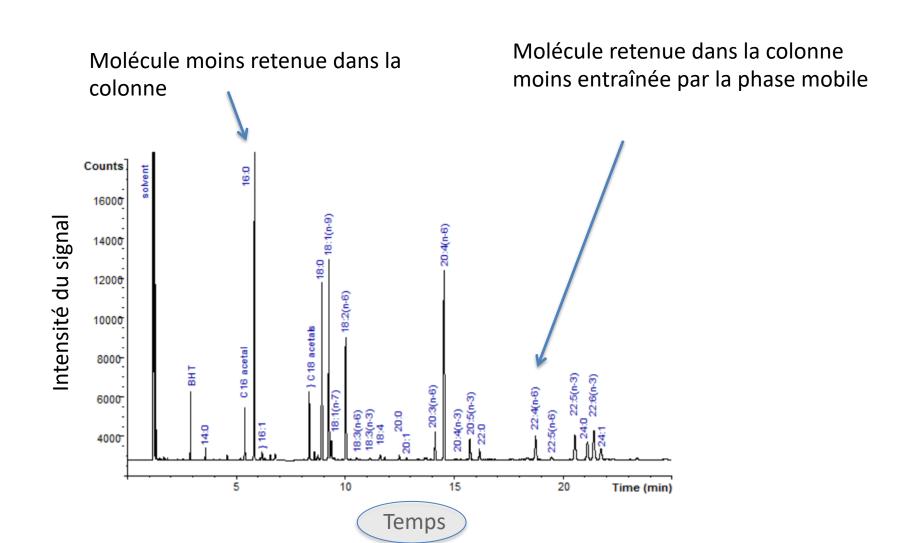
Chromatographie en phase gazeuse.



Colonne: lieu de séparation en fonction de l'affinité des lipides pour la colonne

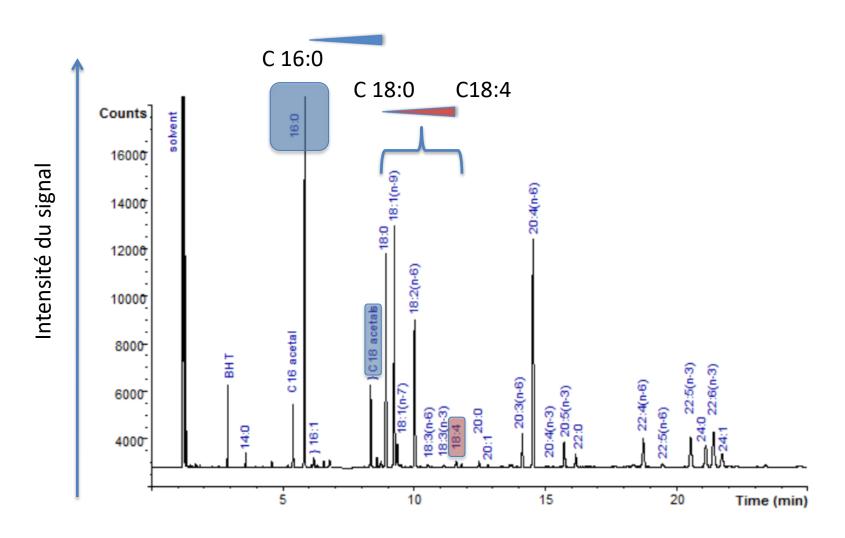
Détection du signal en fonction du temps

Plus une molécule est retenue dans la colonne = Plus le temps est long

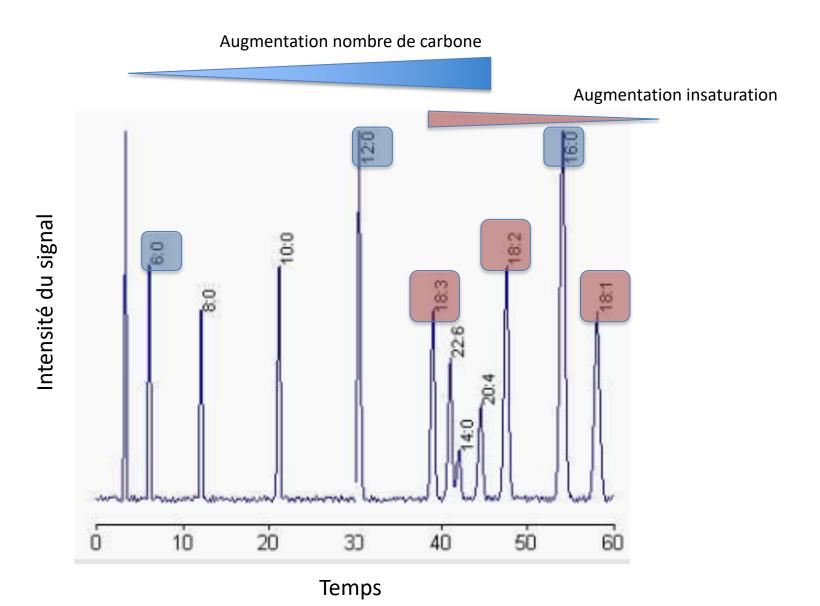


## Chromatographie en phase gazeuse.

Ex: Séparation d'acides gras



Chromatographie liquide par HPLC (High Performance Liquid Chromatography)



## Bilan lipidiques: Dosage des lipides plasmatiques

Important pour détecter trouble métabolique des lipides, hypercholestérolémie, risque de CVDD

## Dosage du cholésterol et des triglycérides

#### Technique de dosage :

- Production de  $H_2O_2$  en quantité proportionnelle à l'élément à doser L'  $H_2O_2$  est utilisé pour produire un chromophore mesurable en spectrophotométrie.

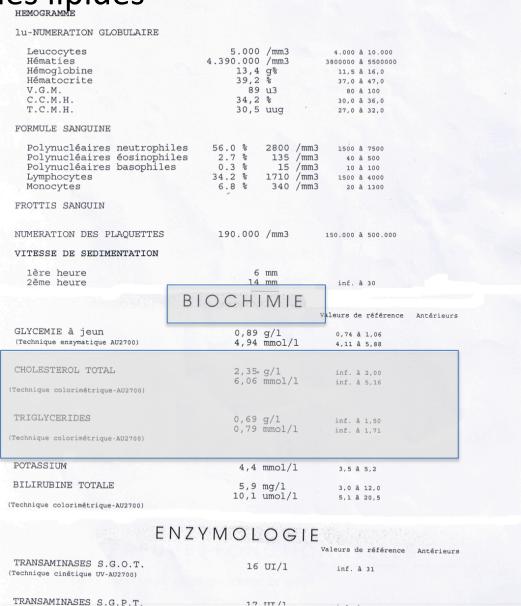
Dosages des lipoprotéines par électrophorèse (cf transport des lipides dans l'organisme)

dosage colorimétrique

du cholésterol (total)

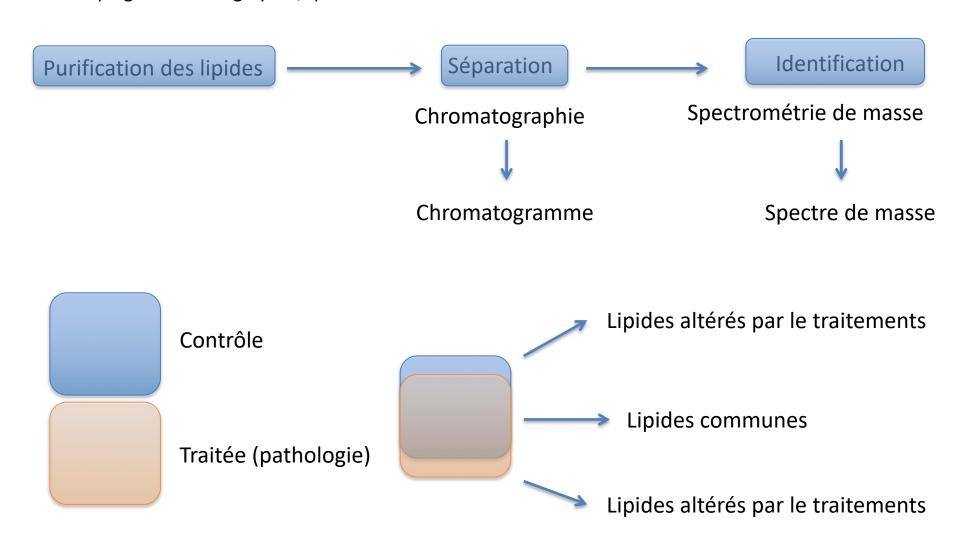
et

des triglycérides

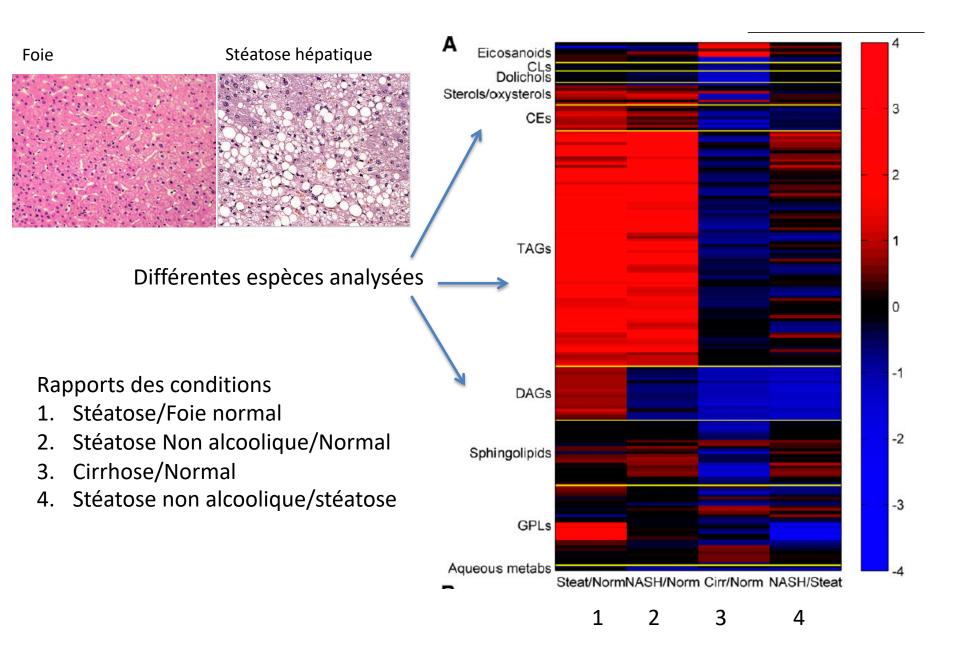


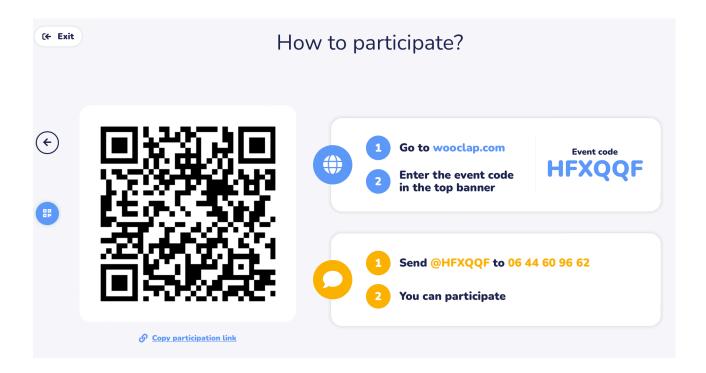
## IV. Techniques d'analyse des lipides Analyse lipidomique

Analyse exhaustive de l'ensemble des lipides composant un échantillon biologique Couplage chromatographie/spectrométrie de masse



# IV. Techniques d'analyse des lipides Analyse lipidomique

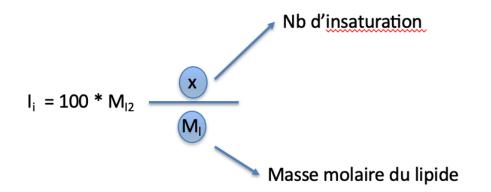




Le lipide X a une masse molaire de 300 g/mole, 2 insaturations et un indice d'iode d'environ 170.

Le lipide Y a trois insaturations et une masse molaire de 300 g/mole

Quel est l'indice d'iode du lipide Y?



Même masse molaire....

Donc 
$$I_y = 3/2 I_x$$