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

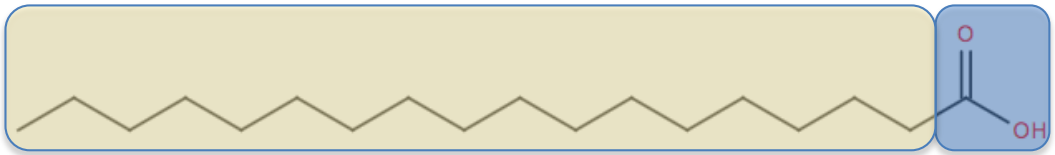
4. Techniques d'analyse des lipides

5. Transport des lipides dans l'organisme

6. Rôle biologiques des lipides (hors stéroïdes)

III. Propriétés physico-chimiques des lipides_Solubilité

Solubilité



Chaîne carbonée:
Queue hydrophobe

Acide carboxylique
Polaire

Solvant polaires

4-6 Carbones: soluble à faible concentration

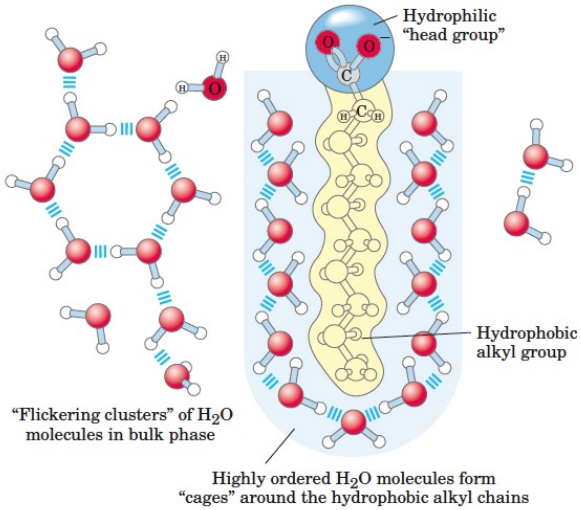
Acide Hexanoïque: 1.082g/100g d'eau
Acide Octanoïque: 0.068g/100g d'eau
Acide Décanoïque: 0.015g/100g d'eau

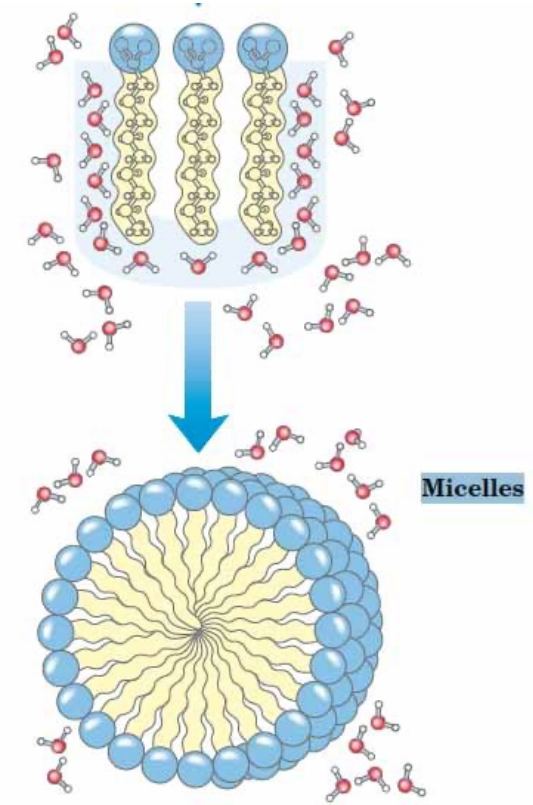
n>12: solvant apolaire uniquement

Chloroforme, benzène, éther

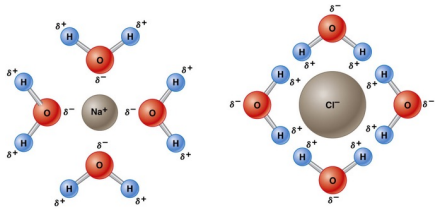
III. Propriétés physico-chimiques des lipides

Solubilité





Micelles:
Minimisation des interactions entre molécules d'eau et queue hydrophobe



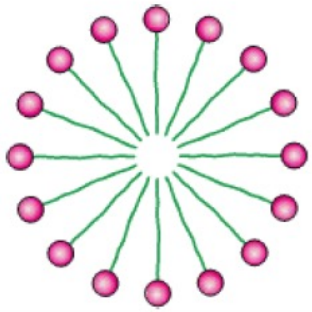
Soluté vrai

Minimisation des interactions chaînes carbonées/eau

III. Propriétés physico-chimiques des lipides

Solubilité

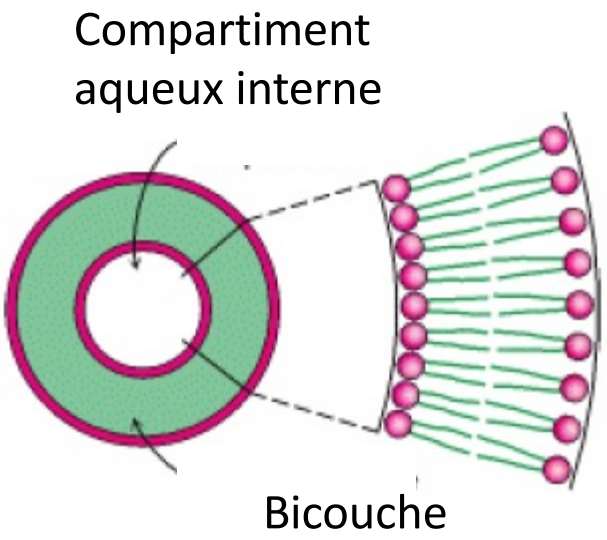
Micelles (20nm)



Phospholipides, Sphingolipides
: Tête polaire plus importante+2 acides gras

Bi-couche (liposomes) (jusqu'à 10µm)

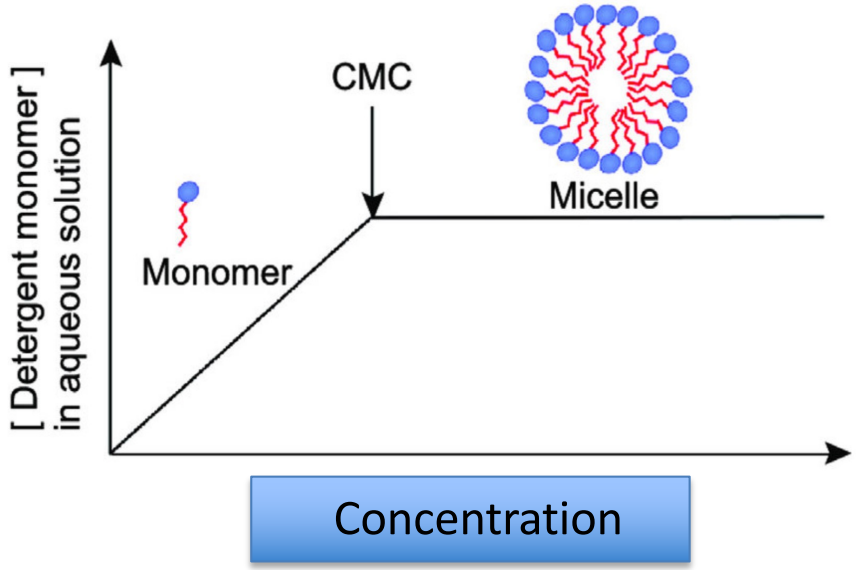
Les membranes biologiques sont des bi-couches (cf Rôles biologiques des lipides).

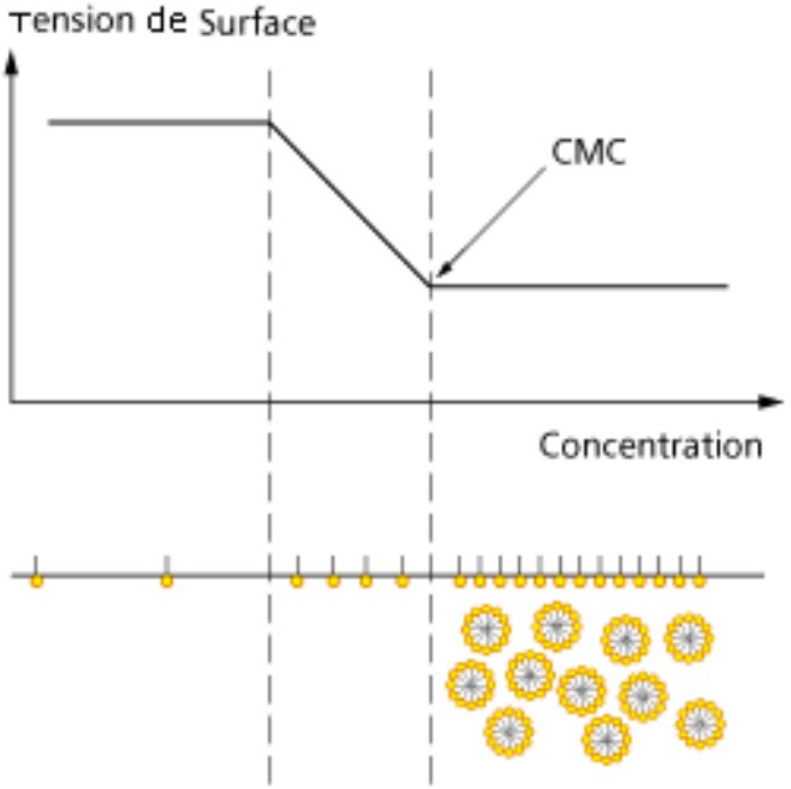


III. Propriétés physico-chimiques des lipides

Concentration micellaire critique (CMC)

Concentration au-delà de laquelle les micelles se forment





III. Propriétés physico-chimiques des lipides

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

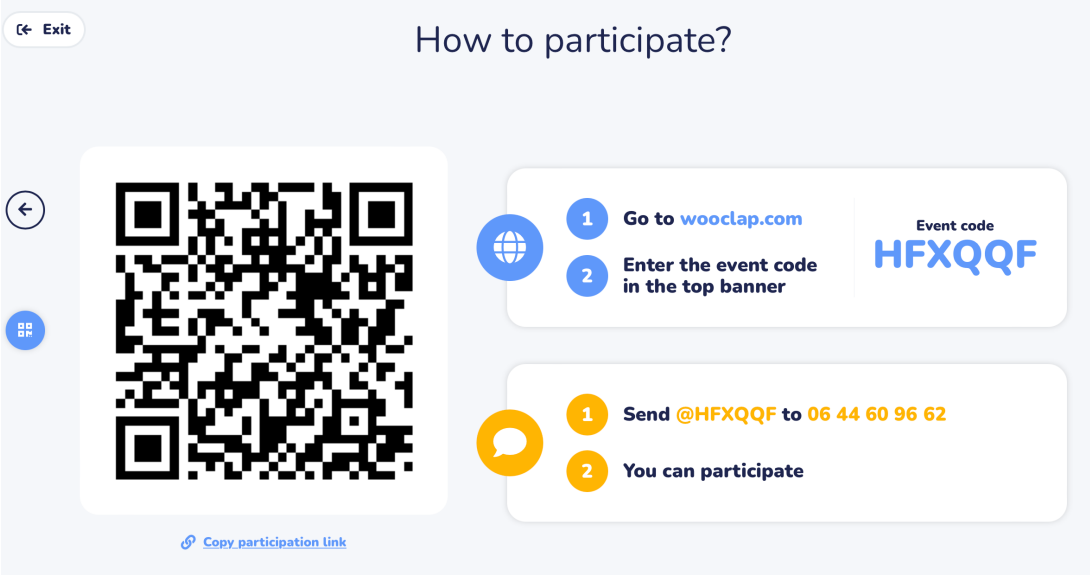
2. CMC augmente avec la polarité de la tête polaire

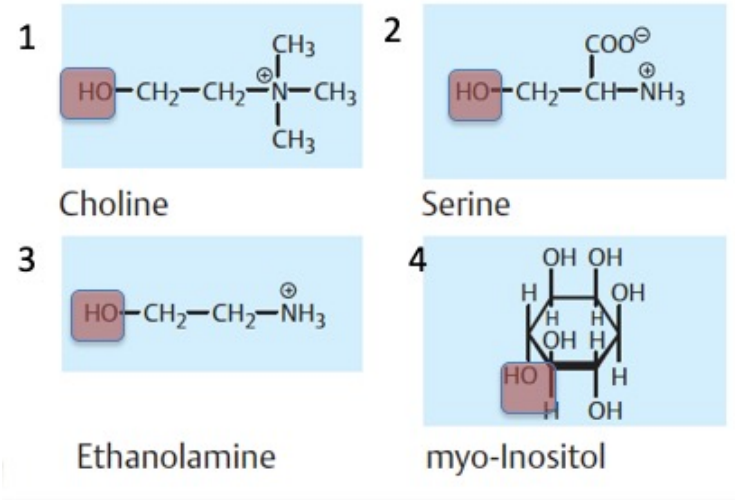
7C

Lipid	CMC (mM)
5:0 PC	90
6:0 PC	15
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

/1000

PC= phosphatidylcholine (ici deux ag identique PC (5:0/5:0)





Question: Quelles sont les molécules les plus polaires ?

III. Propriétés physico-chimiques des lipides

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

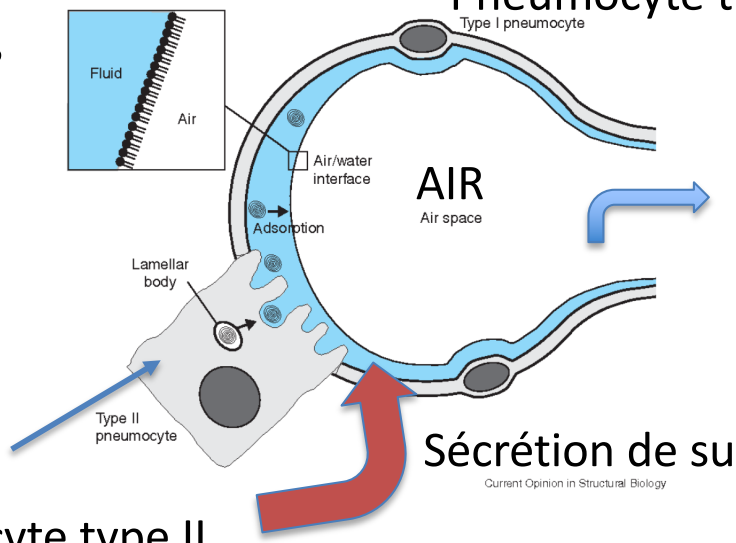
Détergents ménagers
Emulsifiants (lécithines..)
    Cuisine, émulsifiant alimentaire (E322, lécithine de soja)
    Sels biliaires (cf rôles biologiques des lipides).
    Surfactants pulmonaires
Liposomes thérapeutiques (cf rôles biologiques des lipides)



III. Propriétés physico-chimiques 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



doit-on connaitre le pourcentage de composition du beurre et de l'olive dans l'analyse d'acides gras

Est ce qu'il faut connaitre les nomenclature des vitamines ?

faut il apprendre les AGI autres que les 3 que vous avez mit sur la diapos ?

Est ce que l'origine des ags et i sont a connaître?

Bonjour vous avez parler dun site pour reconnaître les lipides que boys utiliser pour vos qcm il est possible d'avoir son nom svp

Est-ce que le tableau de l'analyse d'acides gras est à apprendre ?

Pour la configuration cis on l'ecrit la où la double liaison commence par exemple entre le c 8 et 9 on va ecrire cis,8 ?

Oe c greg

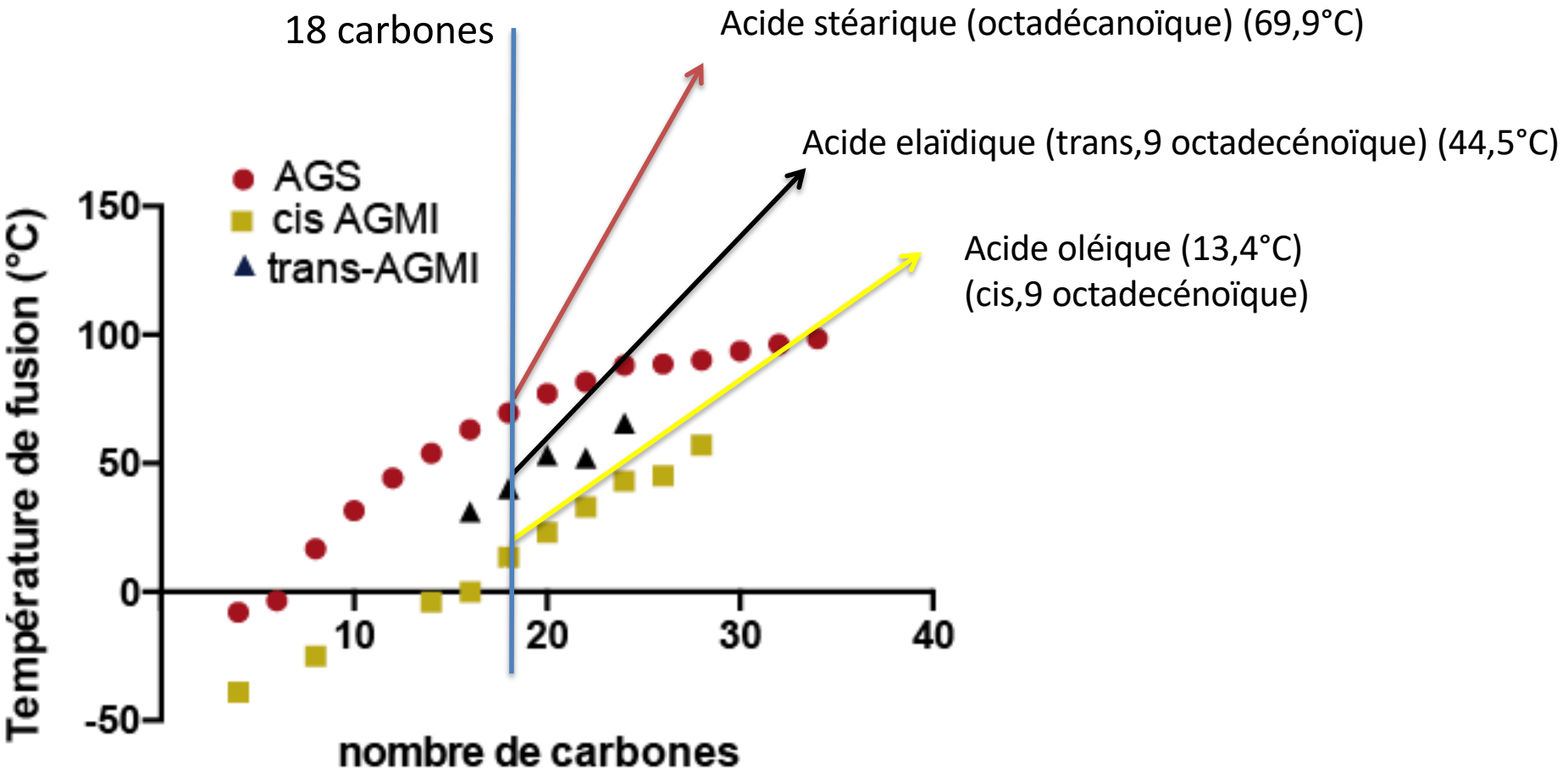
Serait-il possible de ré expliquer la partie de la formation des icosanoïdez

cc

Est -ce que les AG trans sont au programme ?

III. Propriétés physico-chimiques des lipides

Température de fusion

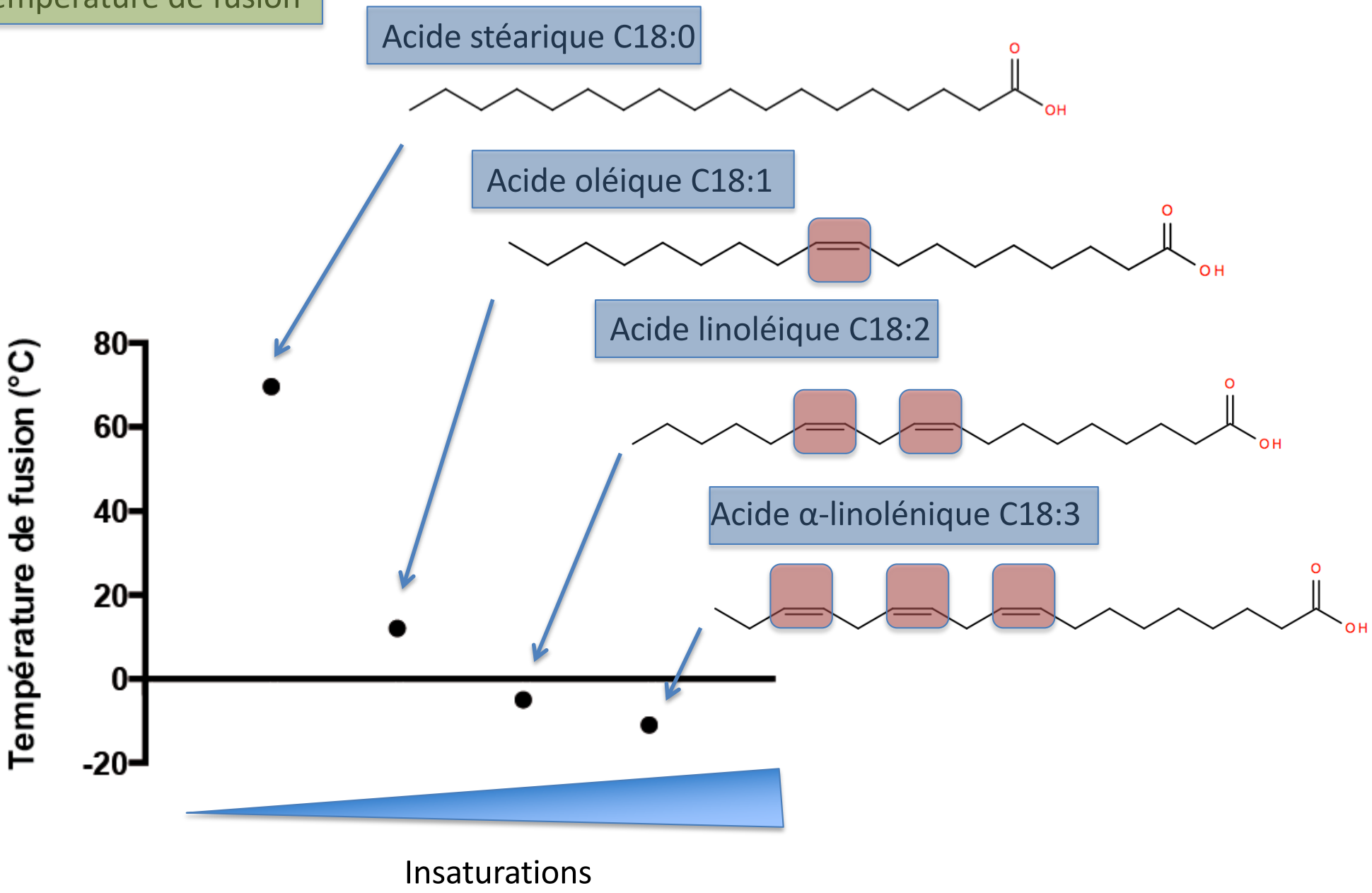


AGS = Acide Gras Saturés

AGMI = acide gras mono-insaturé

III. Propriétés physico-chimiques des lipides

Température de fusion



III. Propriétés physico-chimiques des lipides

Huile de tournesol (composition en AG):

TAG composés de

Acide Linoléique (C18:2) 67%
Acide Oléique (C18:1) 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

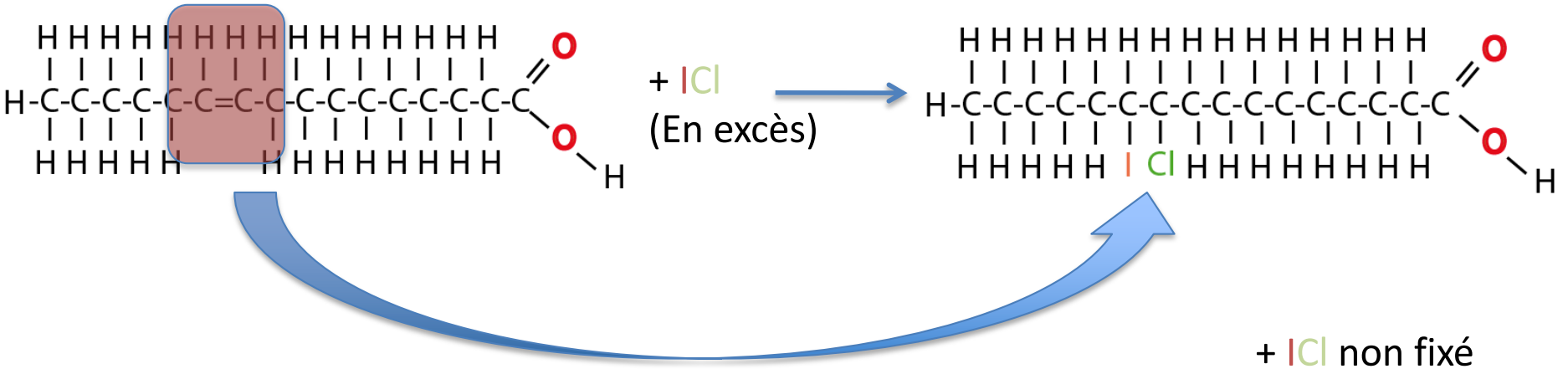
} 63 % d'AGS

Acide Oléique (C18:1) 19,96%



III. Propriétés physico-chimiques des lipides

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).





I: 120 30-45

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

Nombre de mole $n = m/M$ ($g / g.mol^{-1}$)

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: $I_{ag}/M_{I2} = 100/M_{ag}$

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

III. Propriétés physico-chimiques des lipides_Indice d'iode

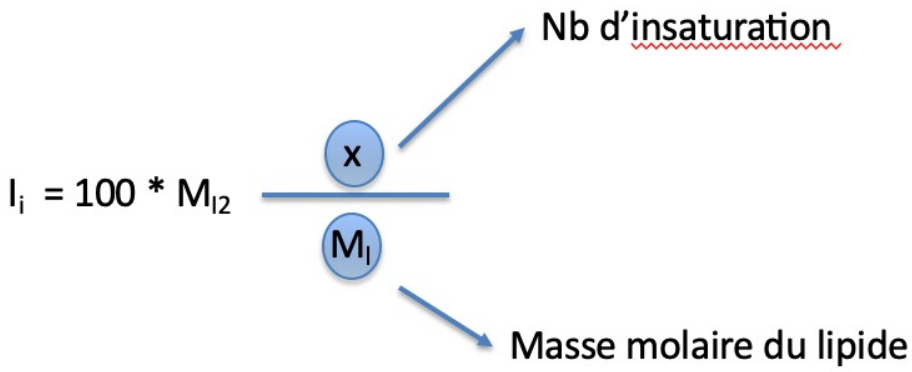
Pour un acide gras saturé: 0

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

$I = (100/M_{ag}) * x*M_{I2}$



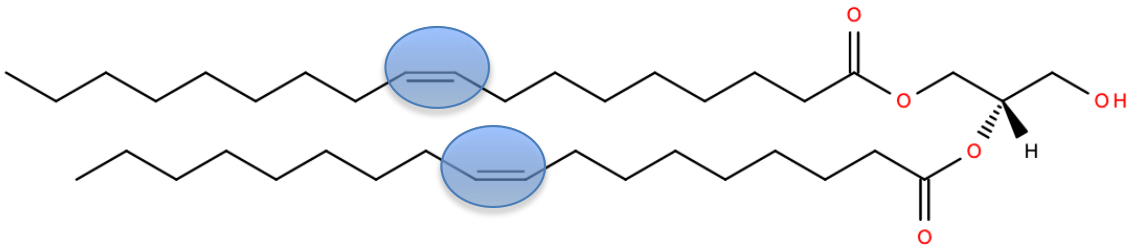
III. Propriétés physico-chimiques des lipides_Indice d'iode

$$I_i = 100 * \frac{M_{I2} \cdot x}{M_I}$$

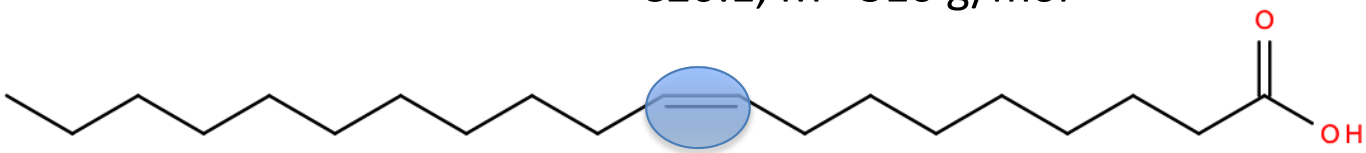
Nb d'insaturation

Masse molaire du lipide

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



C20:1, M= 310 g/mol



III. Propriétés physico-chimiques des lipides

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).



ester ion hydroxyde ion carboxylate Alcool

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

III. Propriétés physico-chimiques des lipides

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:

$Is = M_{KOH} * 1 * 10^3 / M_{ester}$

Nombre de mole de KOH nécessaire

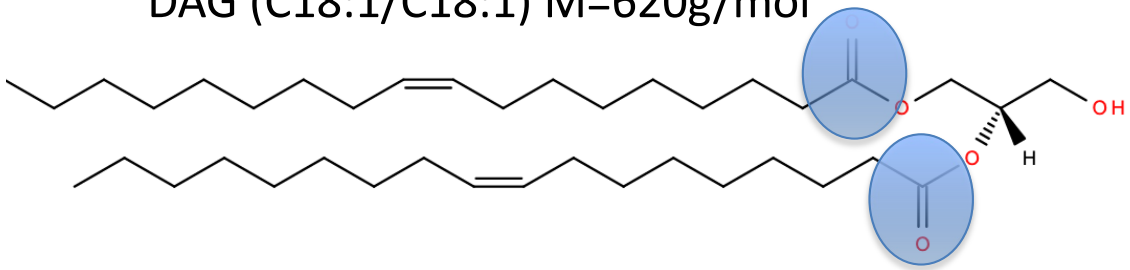
III. Propriétés physico-chimiques des lipides

$$Is = 1000 * \frac{M_{KOH}}{M_l} \times x$$

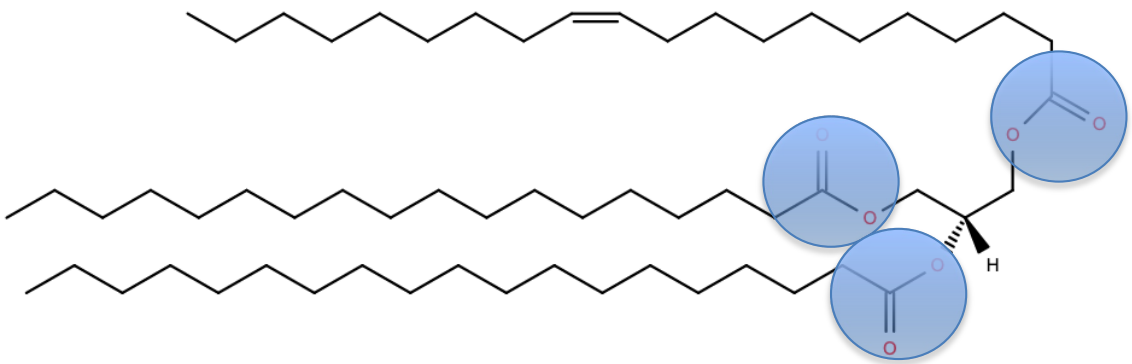
Nb de liaison ester

Masse molaire du lipide

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



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



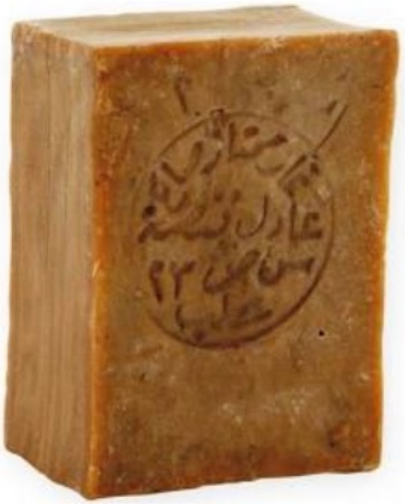
III. Propriétés physico-chimiques des lipides

Saponification

Huile d'olive

I_s= 190 (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

1. 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

IV. Techniques d'analyse des lipides

A partir d'un échantillon complexe:

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

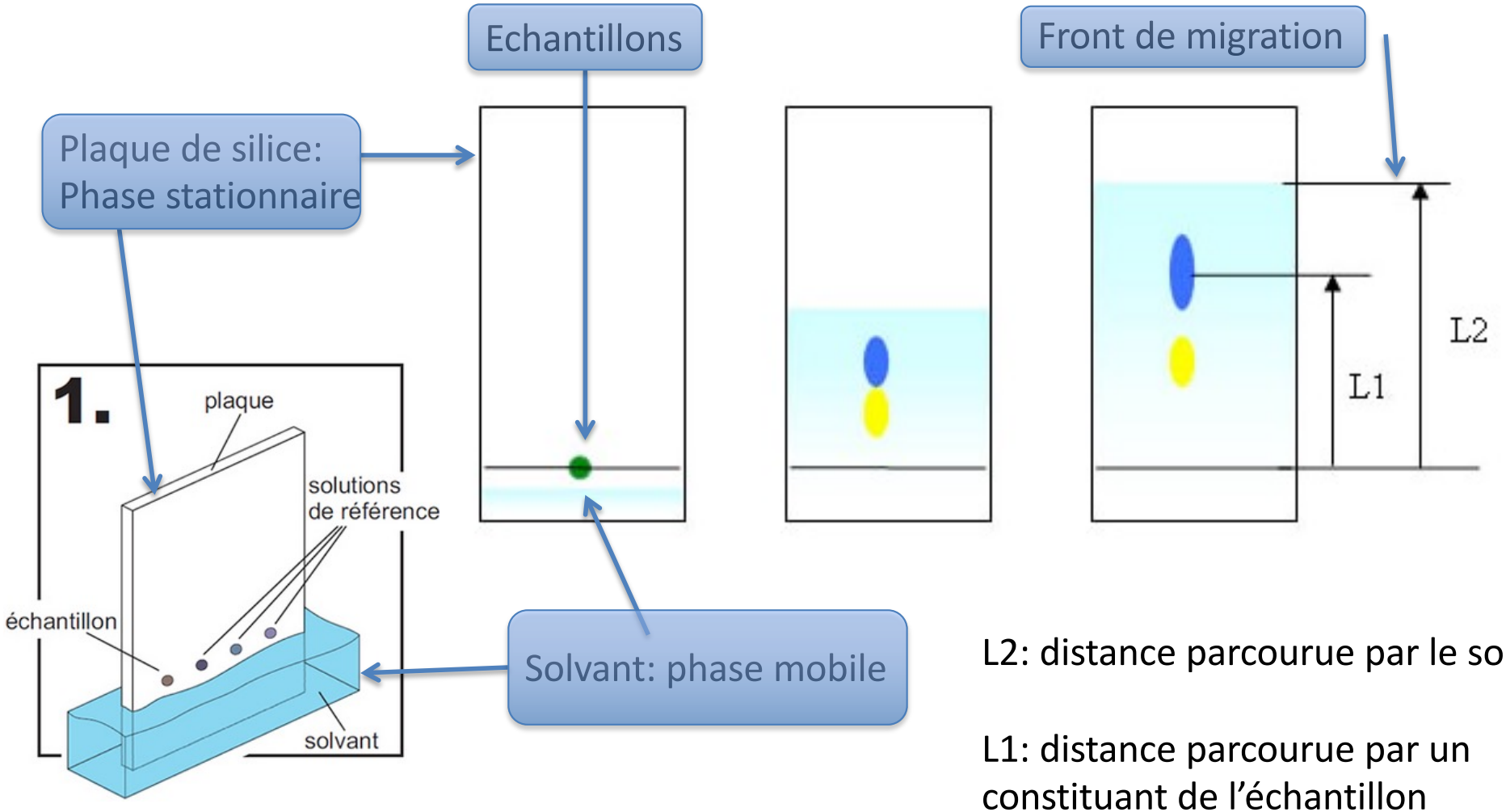
   CCM Chromatographie couche mince
   CPG Chromatographie en phase gazeuse
   HPLC High Pressure liquid chromatography

2. Identifier : Par rapport à un standard connu
   En spectrométrie de masse

IV. Techniques d'analyse des lipides

Principe

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

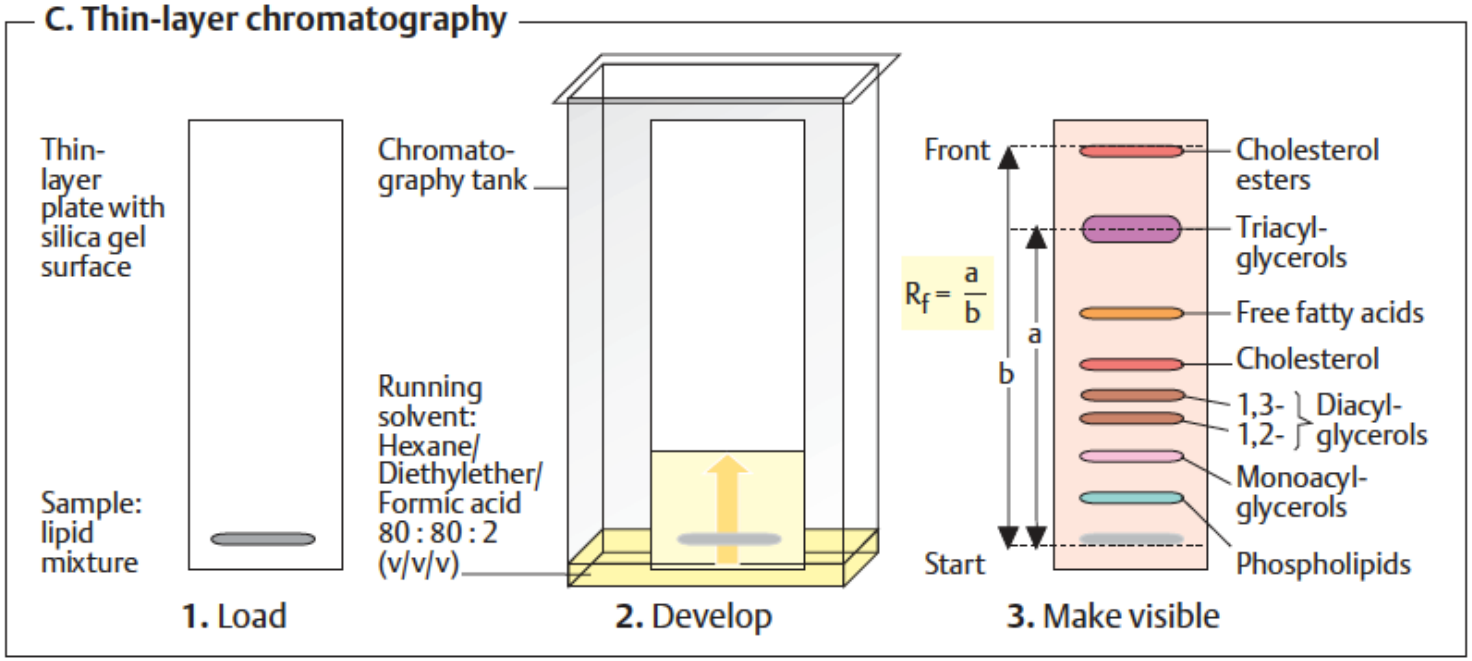


L2: distance parcourue par le solvant

L1: distance parcourue par un constituant de l'échantillon

IV. Techniques d'analyse des lipides 1. CCM

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



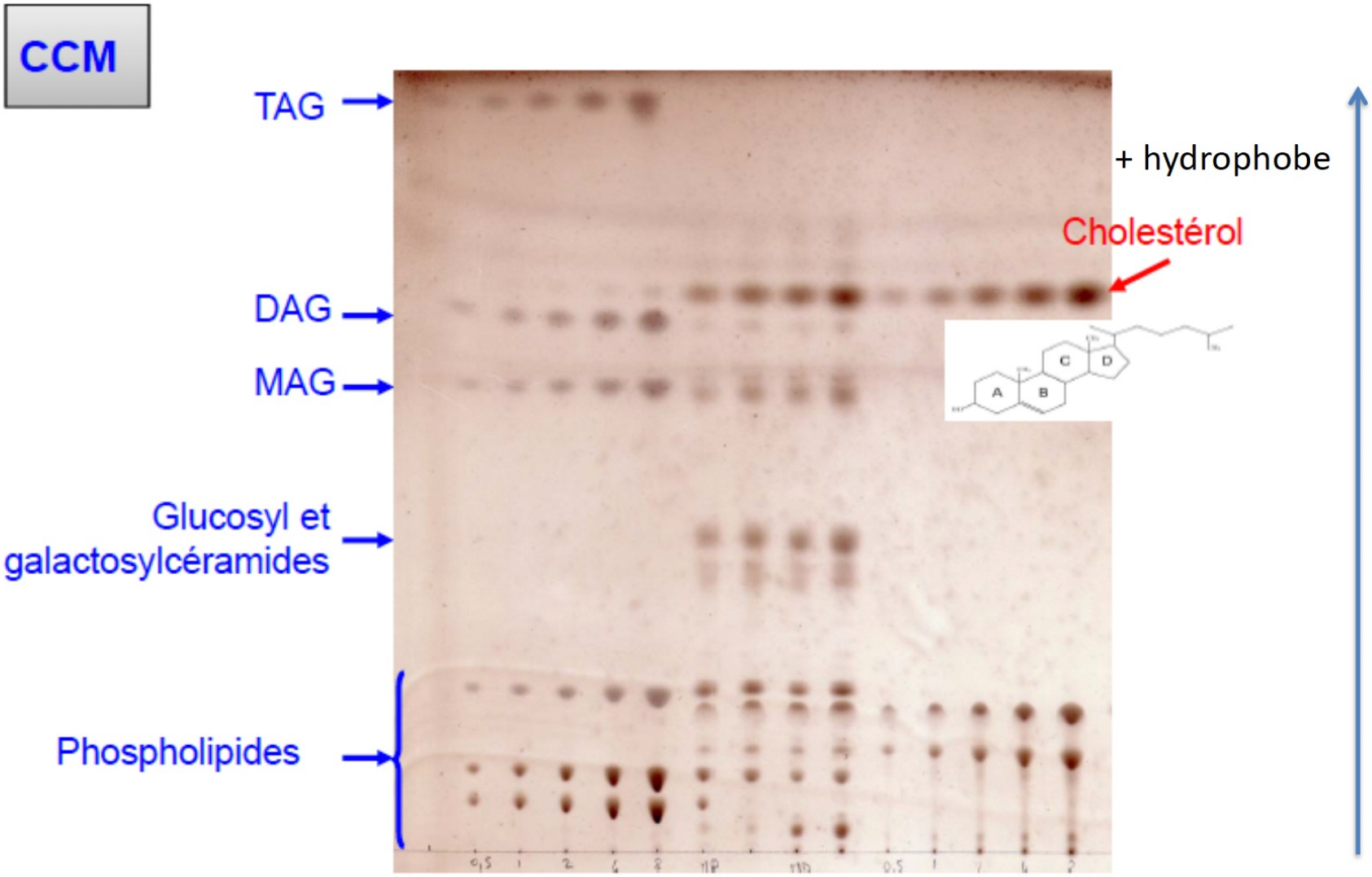
Esters de cholesterol
TAG
Acide Gras libre
Cholesterol
Di-acyl glycérol
Mono acyl glycerol
Phospholipides

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

$$\text{Facteur de rétention (Rf)} = \frac{\text{Distance parcourue par le lipide à identifier}}{\text{Distance parcourue par le solvant}}$$

IV. Techniques d'analyse des lipides 1. CCM

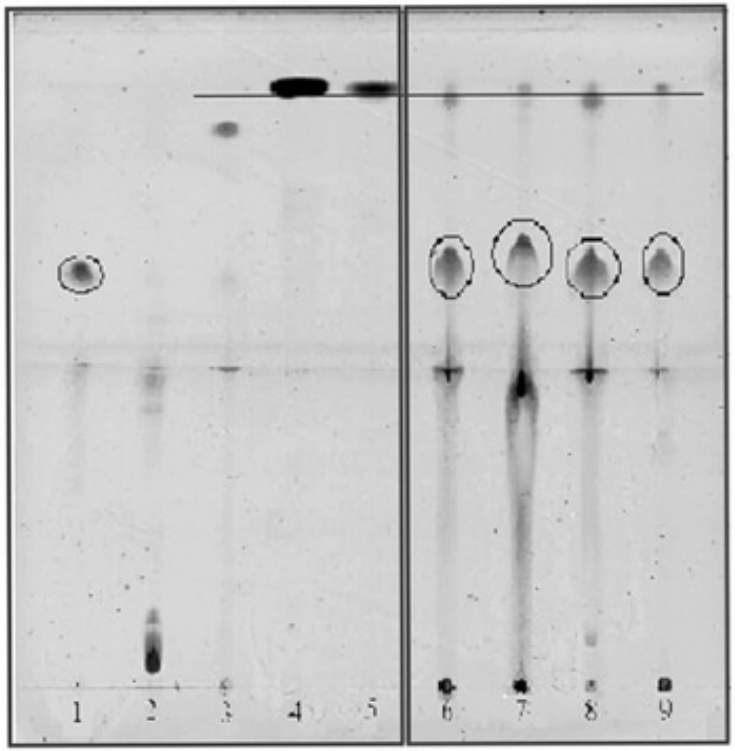
Chromatographie sur couche mince=CCM (Thin Layer Chromatography TLC)



IV. Techniques d'analyse des lipides 1. CCM

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)

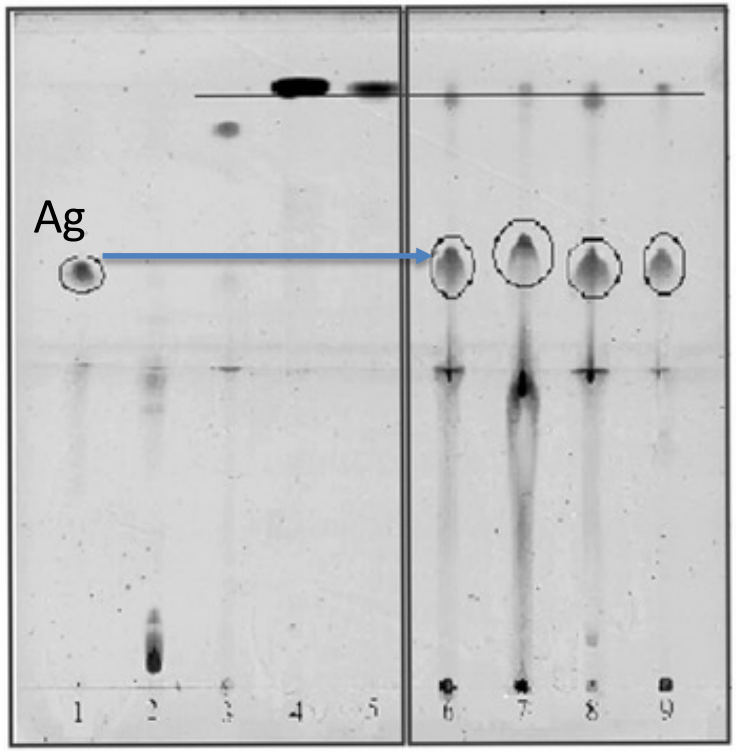
9 : graisse de rorqual Muséum (à coeur)

Echantillons de références Echantillons à analyser

IV. Techniques d'analyse des lipides 1. CCM

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)

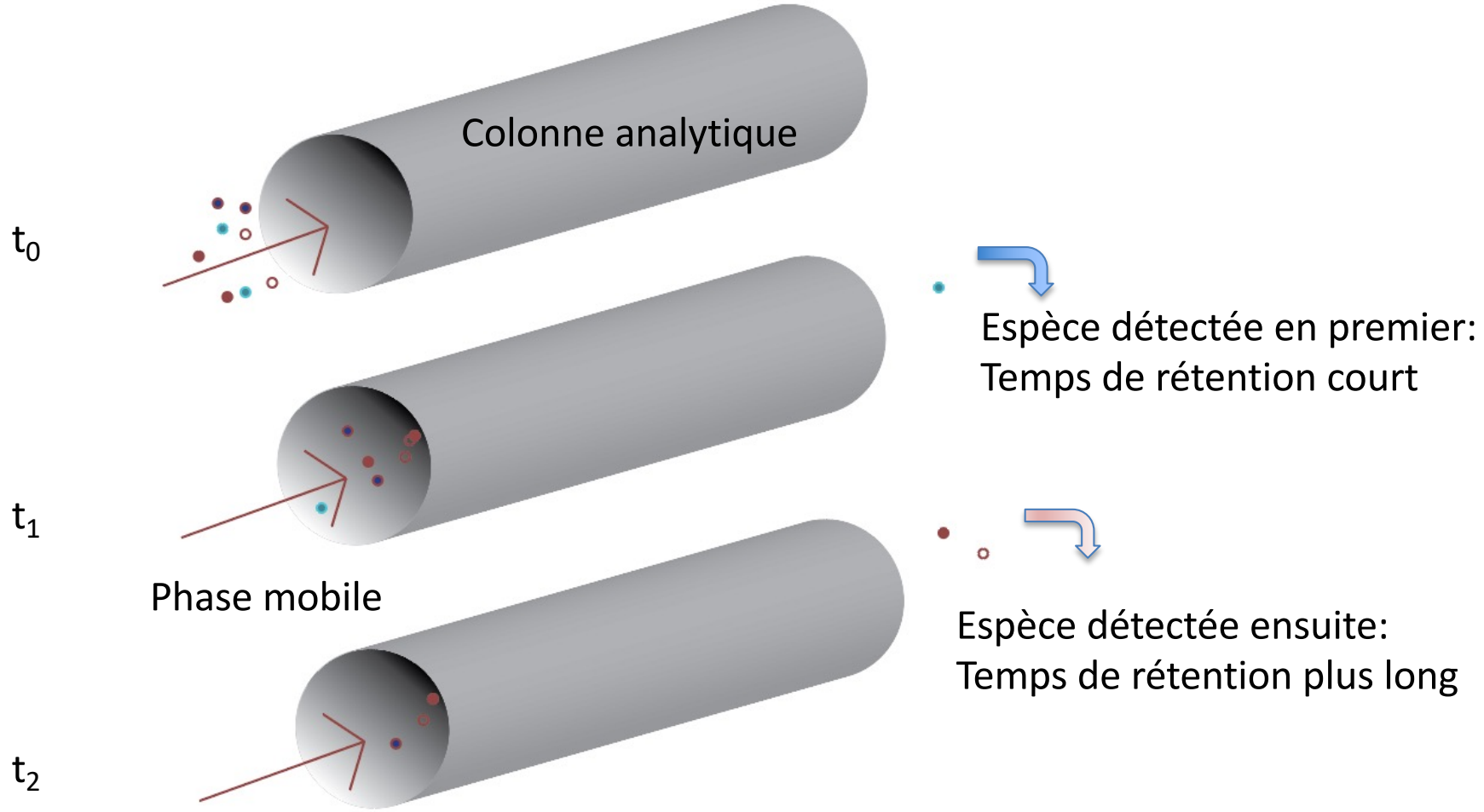
8 : graisse de vertèbre CRMM (à coeur)

9 : graisse de rorqual Muséum (à coeur)

Echantillons de références Echantillons à analyser

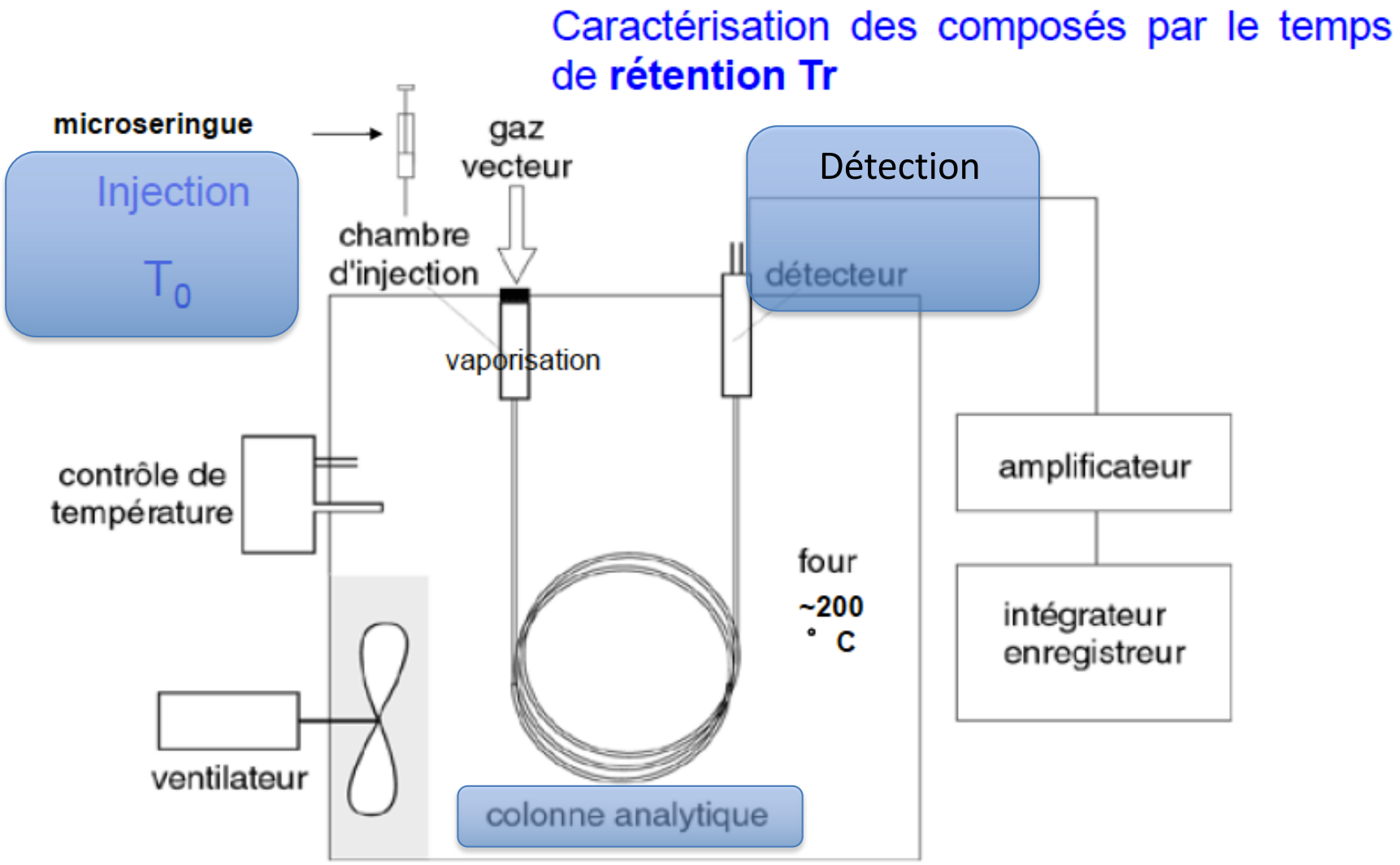
Techniques d'analyse des lipides

Chromatographie sur colonne: principe



Techniques d'analyse des lipides

Chromatographie en phase gazeuse.



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

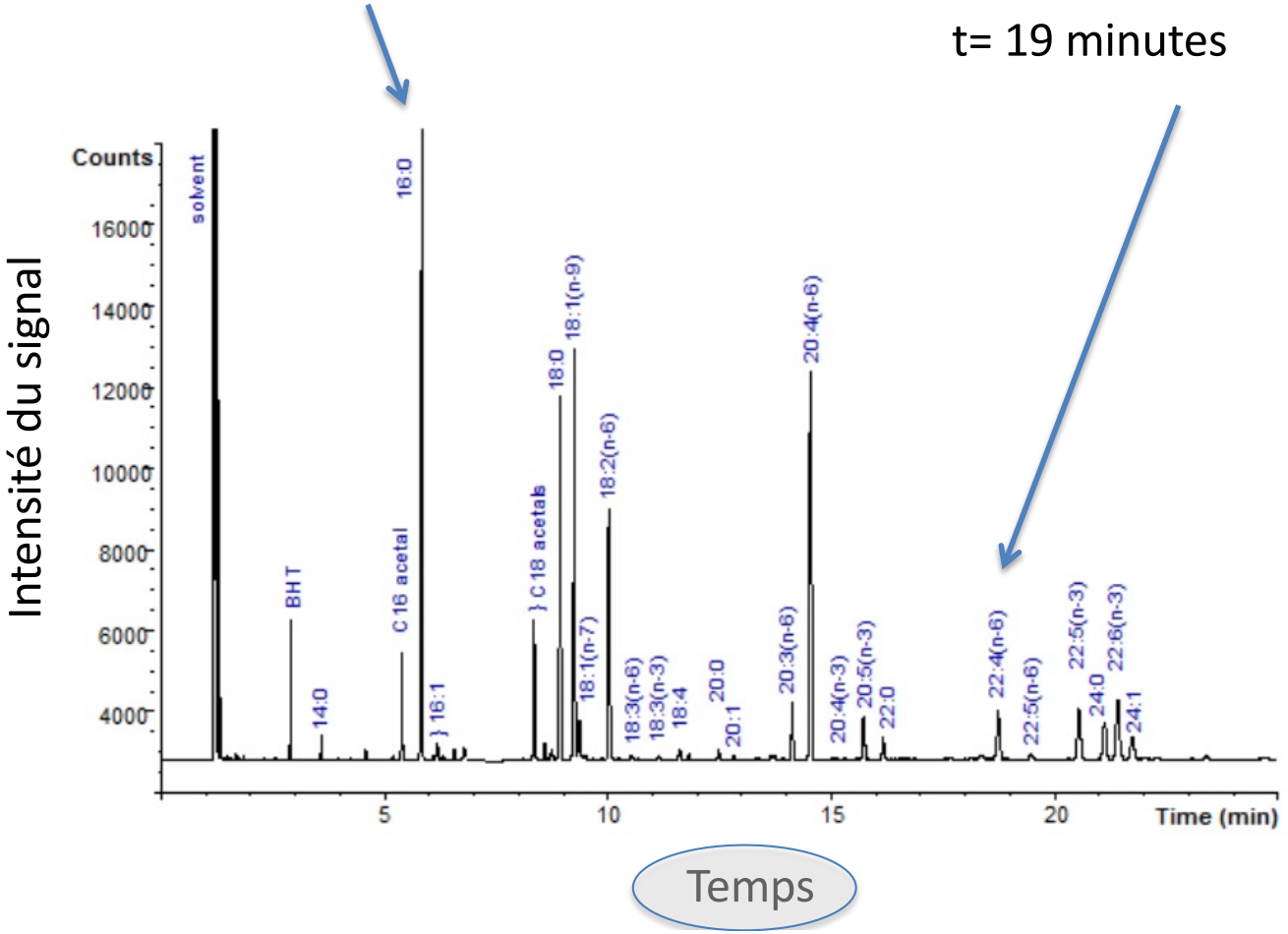
Techniques d'analyse des lipides

Détection du signal en fonction du temps

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

Molécule moins retenue dans la colonne t = 6 minutes

Molécule retenue dans la colonne moins entraînée par la phase mobile t= 19 minutes



Techniques d'analyse des lipides

Chromatographie en phase gazeuse.

Ex: Séparation d'acides gras

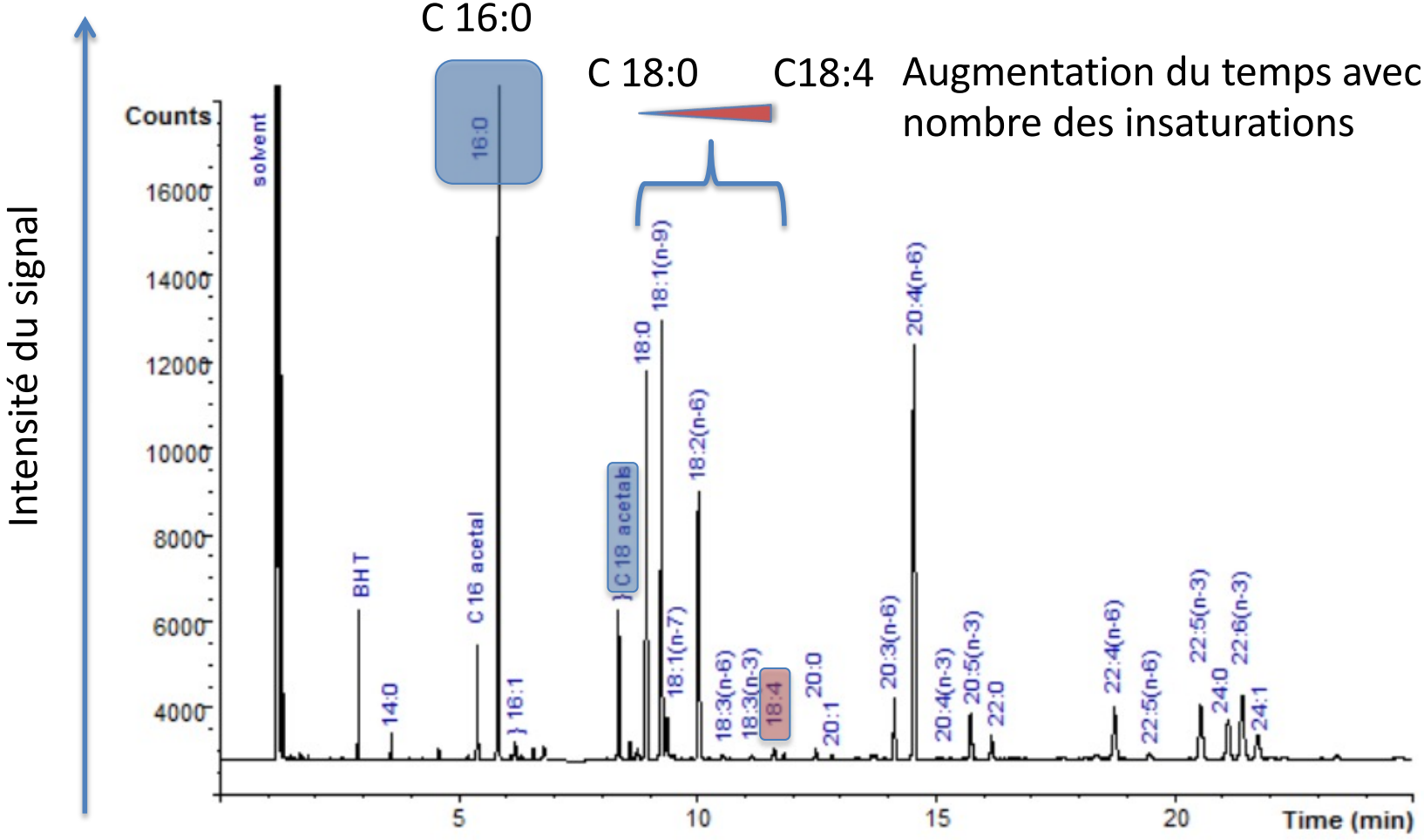
Augmentation du temps avec la longueur des chaînes carbonées

C 16:0

C 18:0

C18:4

Augmentation du temps avec le nombre des insaturations

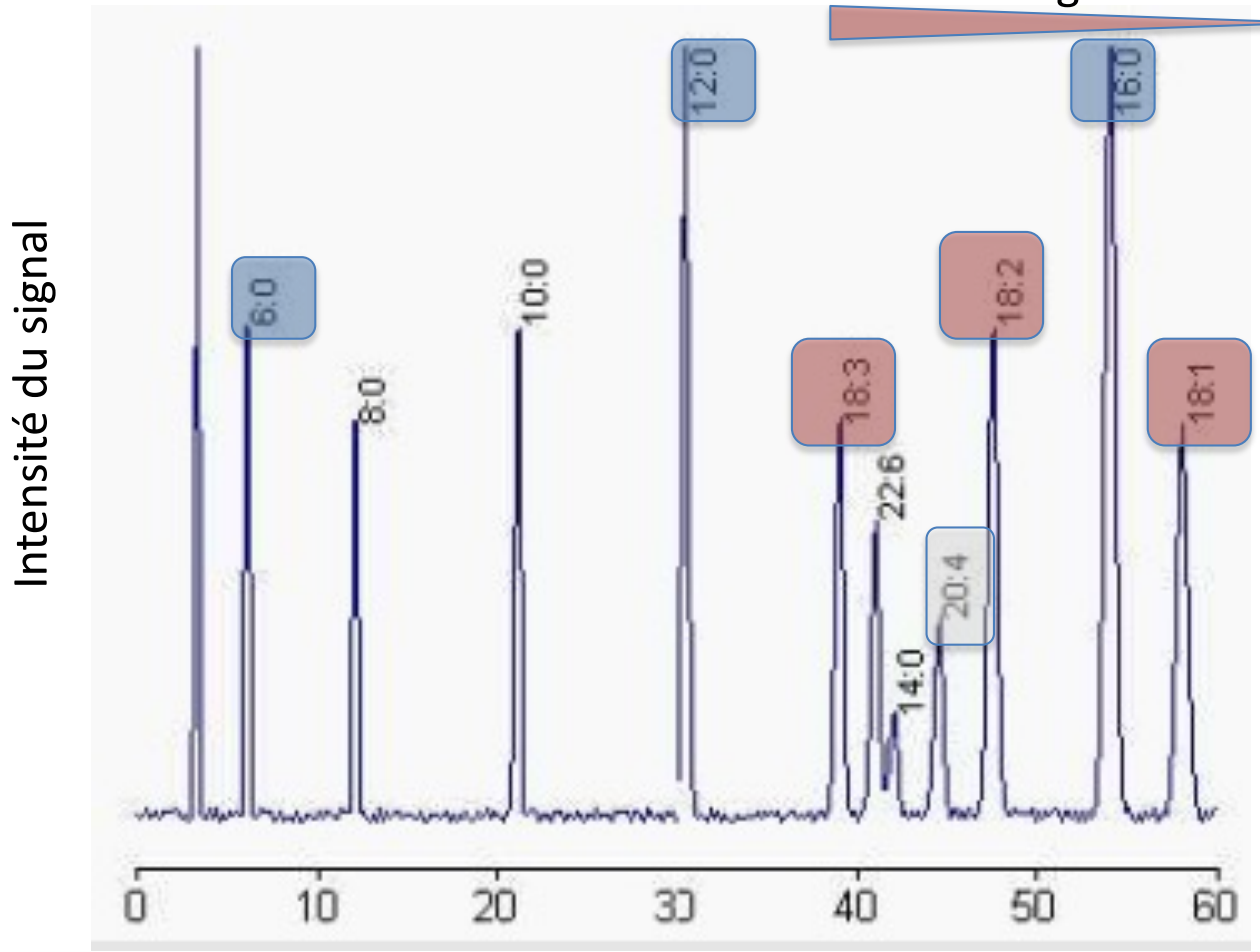


IV. Techniques d’analyse des lipides

Chromatographie liquide par HPLC (High Performance Liquid Chromatography)

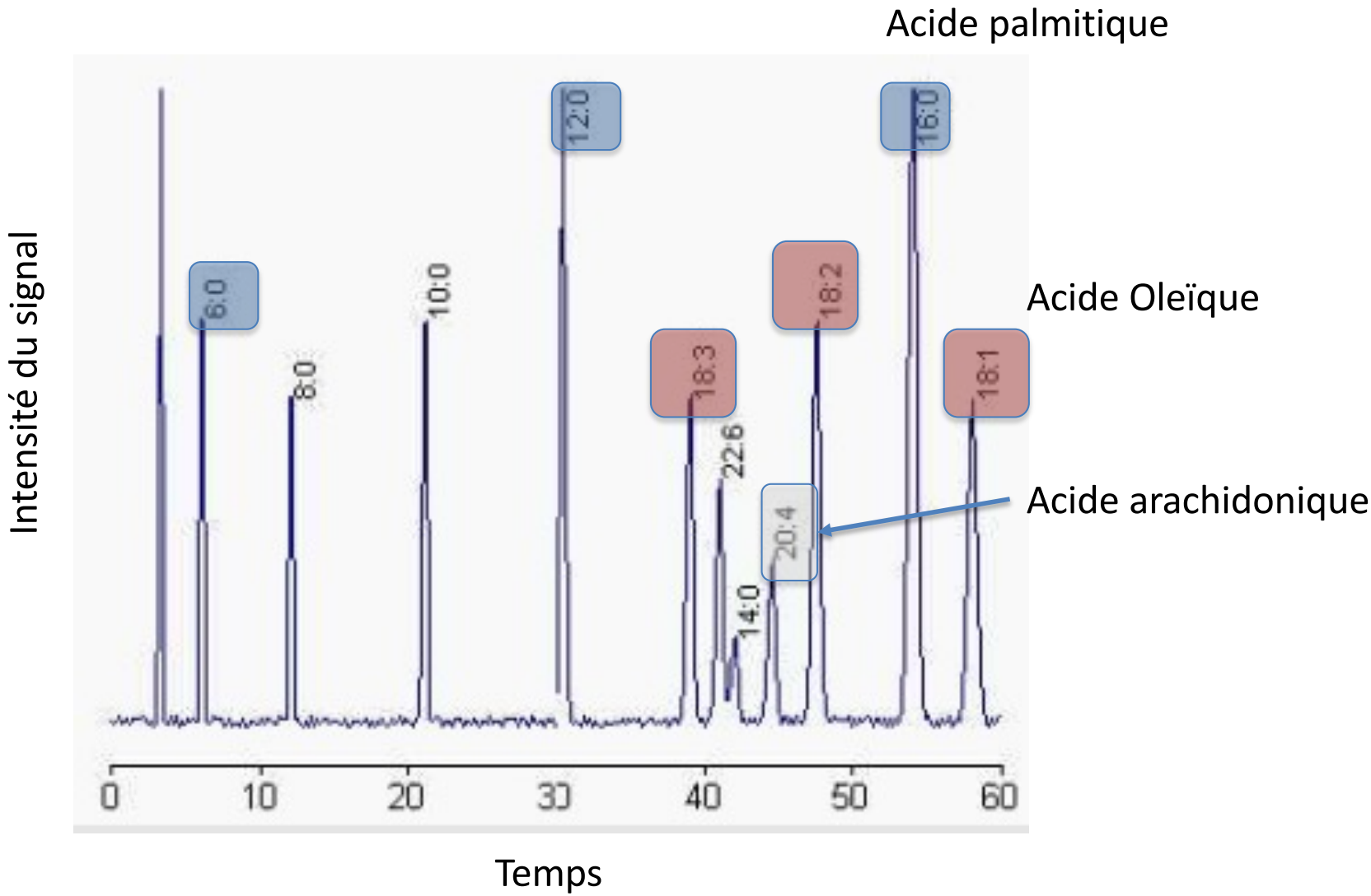
Augmentation nombre de carbone = augmentation temps

Augmentation insaturations
= diminution du temps



IV. Techniques d’analyse des lipides

Chromatographie liquide par HPLC (High Performance Liquid Chromatography)



IV. Techniques d'analyse des lipides

Bilans lipidiques: Dosage des lipides plasmatiques

Important pour détecter trouble métabolique des lipides, hypercholestérolémie, risque de maladies cardio-vasculaires

Dosage du cholestérol 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)

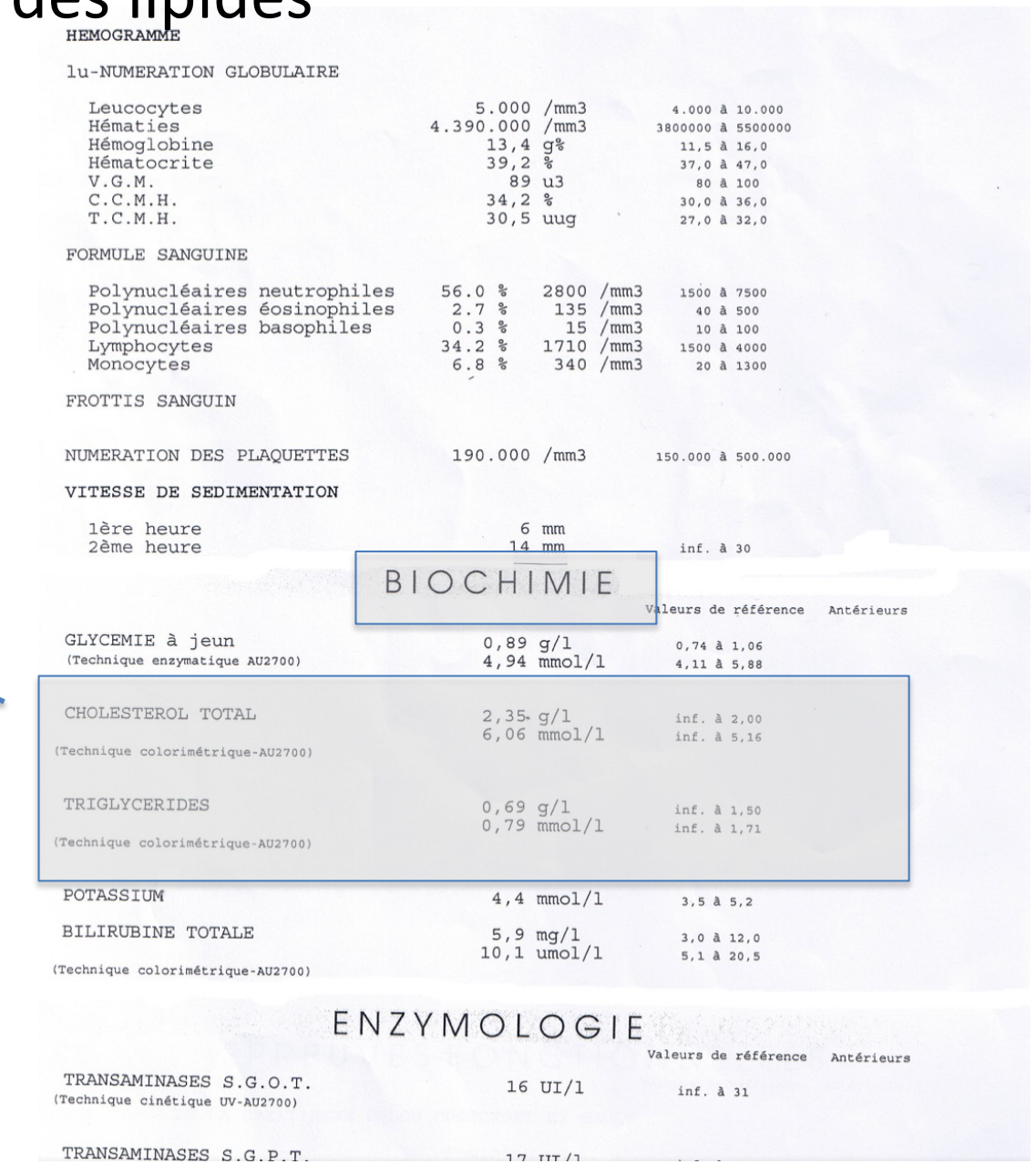
IV. Techniques d'analyse des lipides

dosage colorimétrique

du cholésterol (total)

et

des triglycérides



HEMOGRAMME

lu-NUMERATION GLOBULAIRE

Leucocytes	5.000 /mm3	4.000 à 10.000
Hématies	4.390.000 /mm3	3800000 à 5500000
Hémoglobine	13,4 g%	11,5 à 16,0
Hématocrite	39,2 %	37,0 à 47,0
V.G.M.	89 u3	80 à 100
C.C.M.H.	34,2 %	30,0 à 36,0
T.C.M.H.	30,5 uug	27,0 à 32,0

FORMULE SANGUINE

Polynucléaires neutrophiles	56.0 %	2800 /mm3	1500 à 7500
Polynucléaires éosinophiles	2.7 %	135 /mm3	40 à 500
Polynucléaires basophiles	0.3 %	15 /mm3	10 à 100
Lymphocytes	34.2 %	1710 /mm3	1500 à 4000
Monocytes	6.8 %	340 /mm3	20 à 1300

FROTTIS SANGUIN

NUMERATION DES PLAQUETTES	190.000 /mm3	150.000 à 500.000

VITESSE DE SEDIMENTATION

1ère heure	6 mm	
2ème heure	14 mm	inf. à 30

BIOCHIMIE

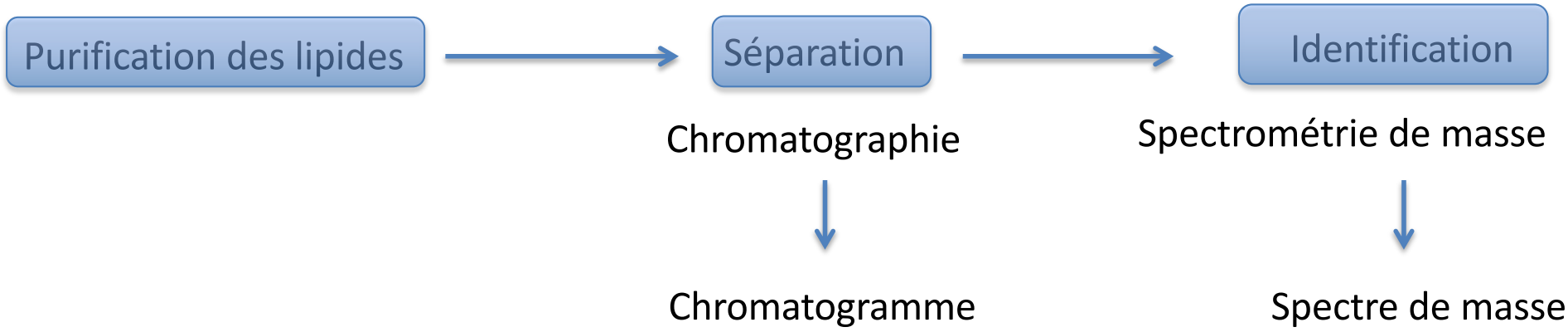
		Valeurs de référence	Antérieurs
GLYCEMIE à jeun (Technique enzymatique AU2700)	0,89 g/l 4,94 mmol/l	0,74 à 1,06 4,11 à 5,88	
CHOLESTEROL TOTAL (Technique colorimétrique-AU2700)	2,35 g/l 6,06 mmol/l	inf. à 2,00 inf. à 5,16	
TRIGLYCERIDES (Technique colorimétrique-AU2700)	0,69 g/l 0,79 mmol/l	inf. à 1,50 inf. à 1,71	
POTASSIUM	4,4 mmol/l	3,5 à 5,2	
BILIRUBINE TOTALE (Technique colorimétrique-AU2700)	5,9 mg/l 10,1 umol/l	3,0 à 12,0 5,1 à 20,5	

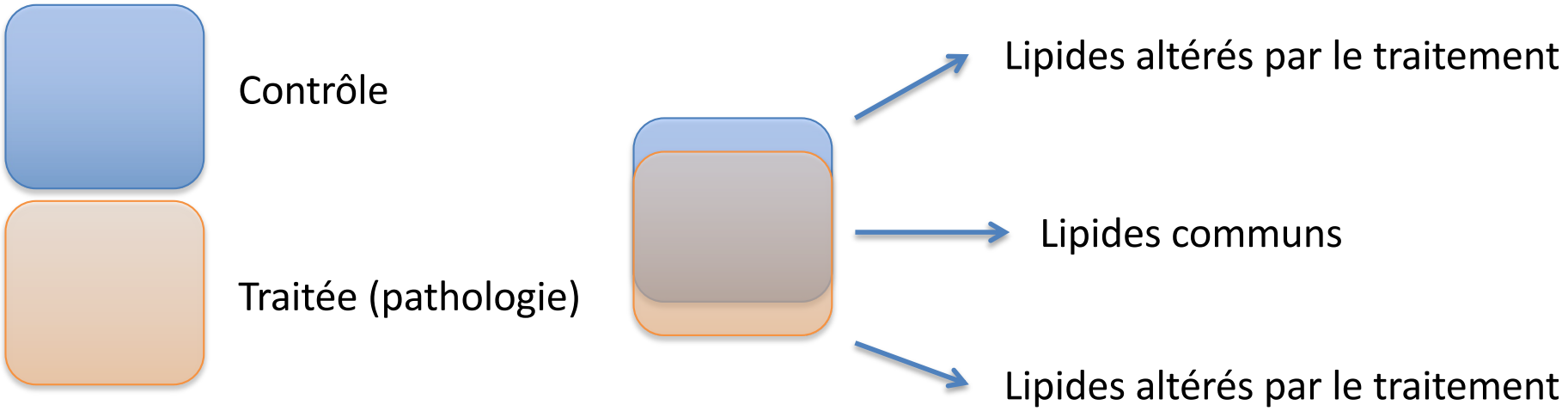
ENZYMOLOGIE

		Valeurs de référence	Antérieurs
TRANSAMINASES S.G.O.T. (Technique cinétique UV-AU2700)	16 UI/l	inf. à 31	
TRANSAMINASES S.G.P.T.	17 UI/l		

IV. Techniques d'analyse des lipides Analyse lipidomique

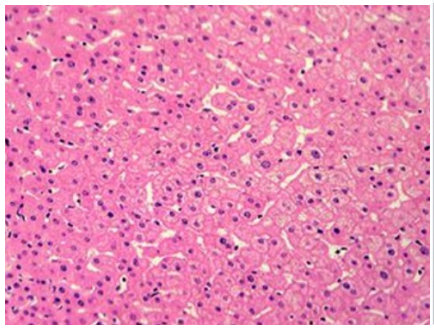
Analyse exhaustive de l'ensemble des lipides composant un échantillon biologique
Couplage chromatographie/spectrométrie de masse



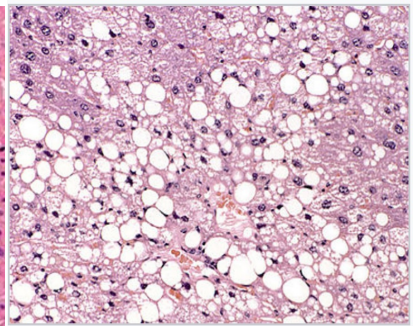


IV. Techniques d'analyse des lipides Analyse lipidomique

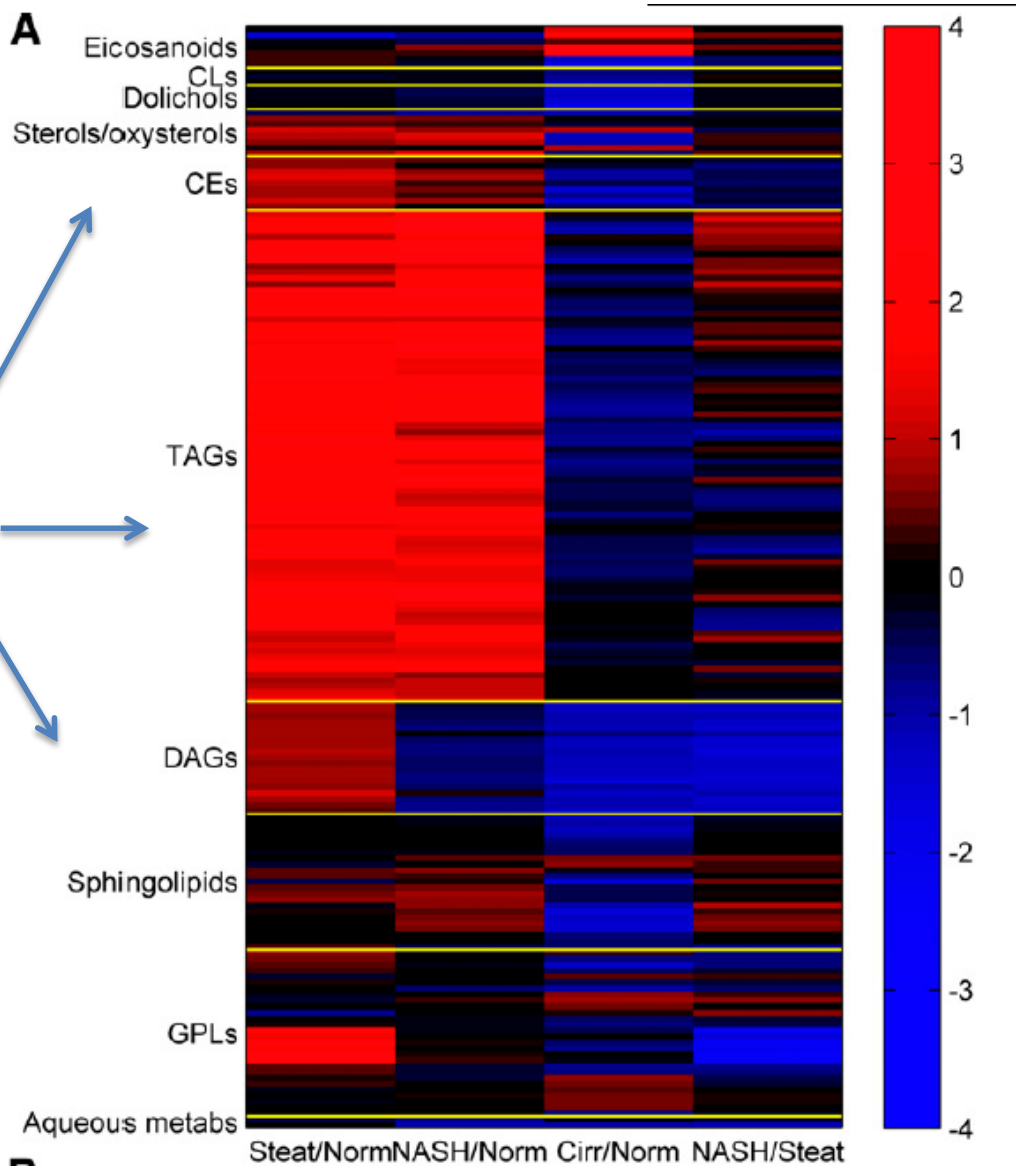
Foie



Stéatose hépatique



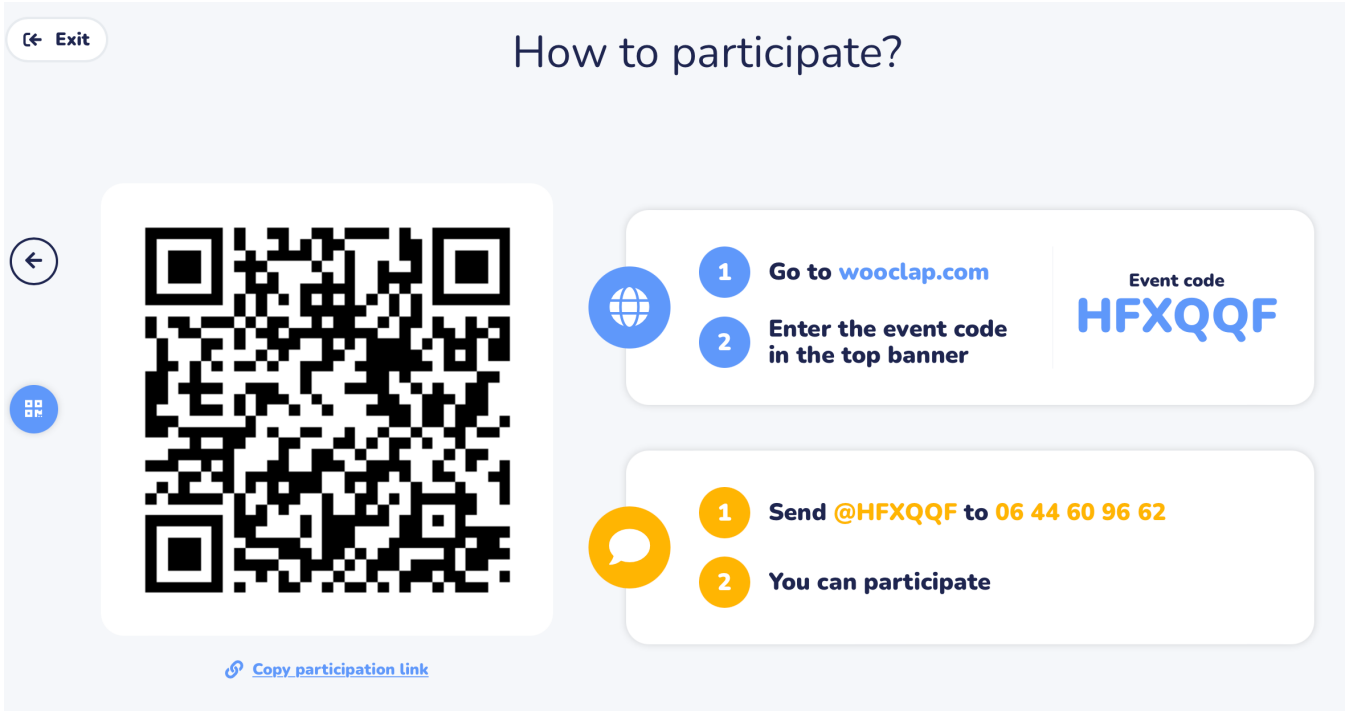
Différentes espèces analysées



Rapports des conditions

1. Stéatose/Foie normal
2. Stéatose Non alcoolique/Normal
3. Cirrhose/Normal
4. Stéatose non alcoolique/stéatose

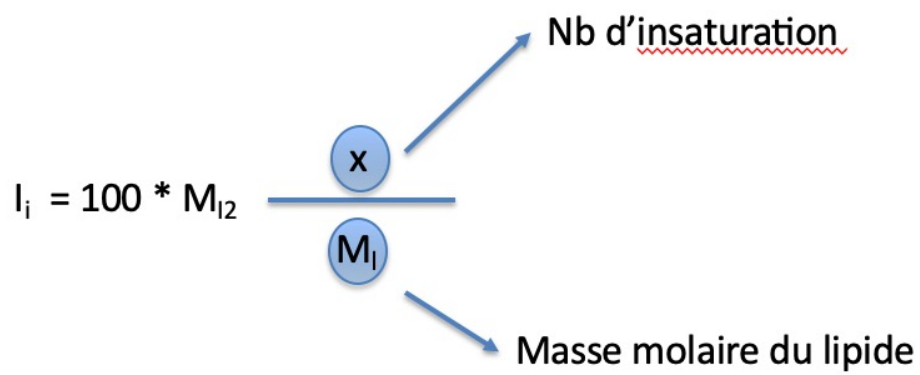
1 2 3 4



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 $I_y = 3/2\ I_x$

Un lipide a une masse molaire de 912 g/mol

Ce lipide est un triacyl-glycérol et contient au total 4 insaturations

Calculer l'indice d'iode et l'indice de saponification.

M_{KOH} = environ 56 g/mol
M_{I2} = 253,8 g/mol