



University of Isfahan  
Biological Science and Technology  
Department of Cell and Molecular  
Biology  
Cellular and Molecular Laboratory  
Farzaneh Forouharfar

# شناسایی کلی چربی ها و شناسایی اختصاصی چربی های اسیدی و خنثی در سلول

# مقدمه

چربی‌ها (Lipid) نیز مانند مواد قندی و نشاسته‌ای در سلول تولید حرارت می‌کنند. در حرارت معمولی جامد هستند. آن دسته از چربی‌ها که در حرارت معمولی مایع می‌باشند، به نام روغن (Oil) شناخته می‌شوند. چربی‌ها در ساختمان غشاء سلول دخالت داشته و در قابلیت نفوذپذیری غشا اهمیت دارند. در این آزمایش جهت شناسایی کلی چربی‌ها (Total Lipid) از رنگ آمیزی اختصاصی توسط آبی نیل (Nile blue) اسفاده می‌شود. چربی‌های خنثی (Neutral Lipid) مثل روغن و موم (Wax) به رنگ قرمز و چربی‌های اسیدی مثل اسید چرب آزاد (Free fatty acids)، فسفوگلسیریدها (Phosphoglycerides) به رنگ آبی در می‌آیند. جهت بررسی دقیق‌تر، شناسایی اختصاصی چربی‌های اسیدی توسط معرف سودان سیاه B (Sudan black B) و شناسایی چربی‌های خنثی توسط معرف سودان چهار (Sudan IV) انجام می‌شود.



مواد و وسایل مورد نیاز

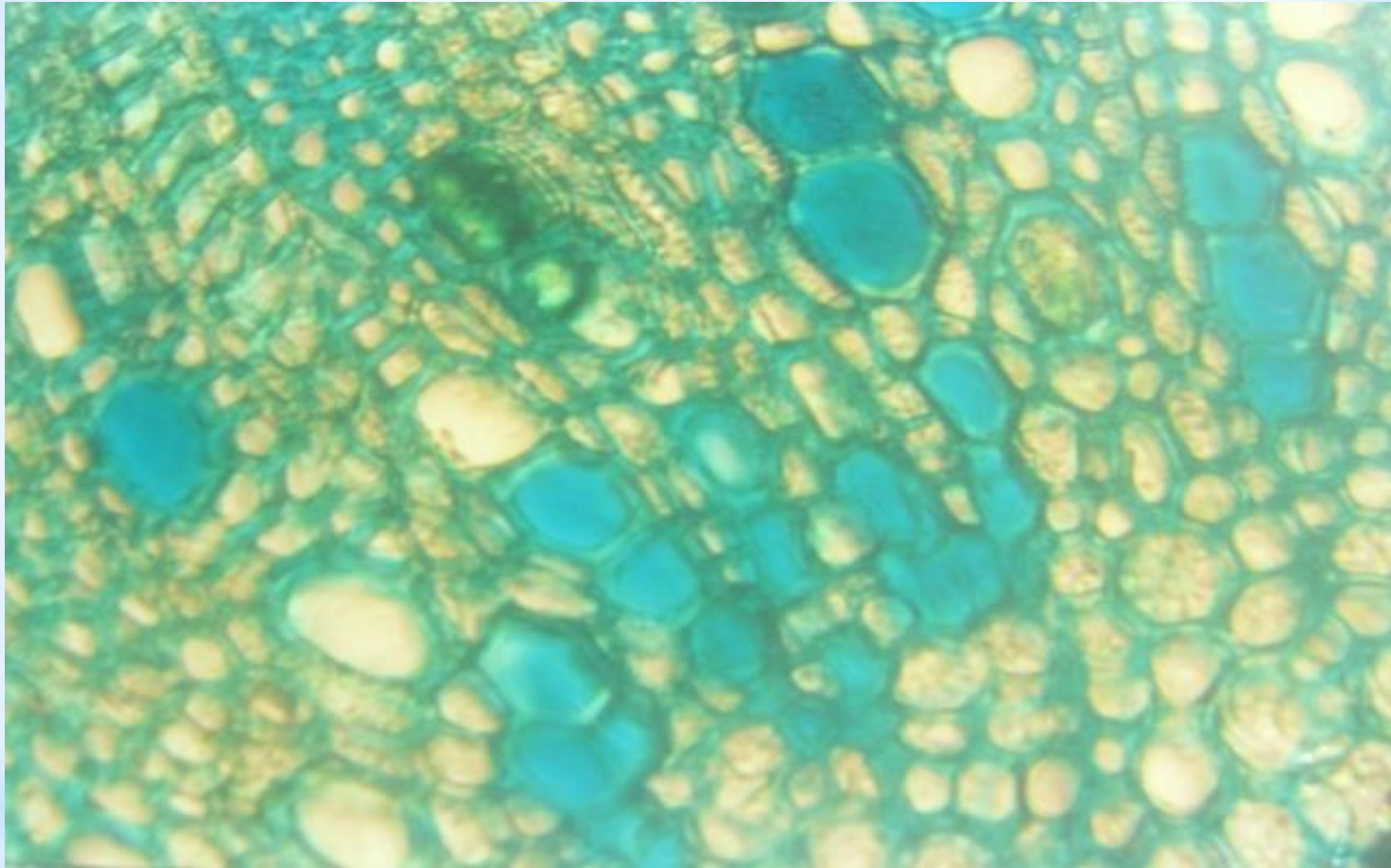
# مواد و وسایل مورد نیاز

۱. آبی نیل
۲. استیک اسید ۱ درصد
۳. سودان سیاه B در الکل اتیلیک ۷۰ درصد
۴. الکل اتیلیک ۵۰ درصد
۵. سودان چهاردر الکل اتیلیک ۷۰ درصد
۶. برش‌های نازک از نمونه گیاهی یا جانوری
۷. لام و لامل
۸. قطره چکان
۹. میکروسکوپ نوری
۱۰. لام ژلاتینی

# روش کار

## شناسایی کلی چربی‌ها ( واکنش با آبی نیل)

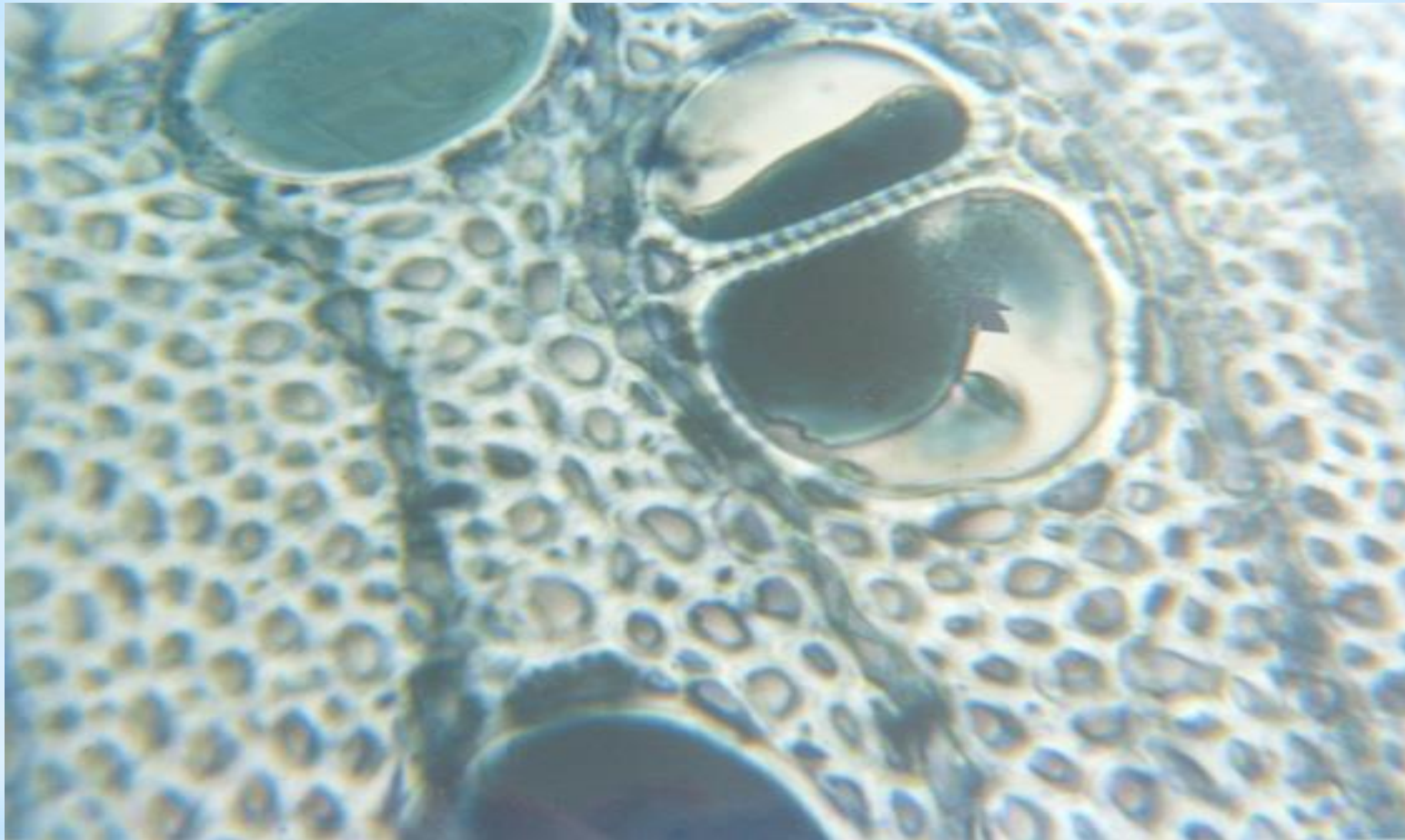
نمونه‌ی برش‌های گرفته شده از ساقه پرتقال والنسیا را پس از تثبیت و شستشو به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در محلول ۱ درصد آبی نیل رنگ کنید. سپس به مدت ۳۰ ثانیه در همان دما در محلول اسید استیک ۱ درصد قرار دهید. نمونه‌ها را به دقت در آب مقطر شستشو داده و در محیط ژلاتینی روی لام بچسبانید و پس از لامل گذاری در بزرگنمایی  $\times 40$  یا  $\times 100$  مشاهده کنید. در این آزمایش در صورت وجود ترکیبات چربی در سلول در واکنش با آبی نیل به رنگ آبی در می‌آیند.



شناسایی چربی ها به صورت کلی توسط واکنش با آبی نیل. مشاهده با بزرگنمایی  $\times 100$

# شناسایی اختصاصی چربی‌های اسیدی (واکنش سودان سیاه B)

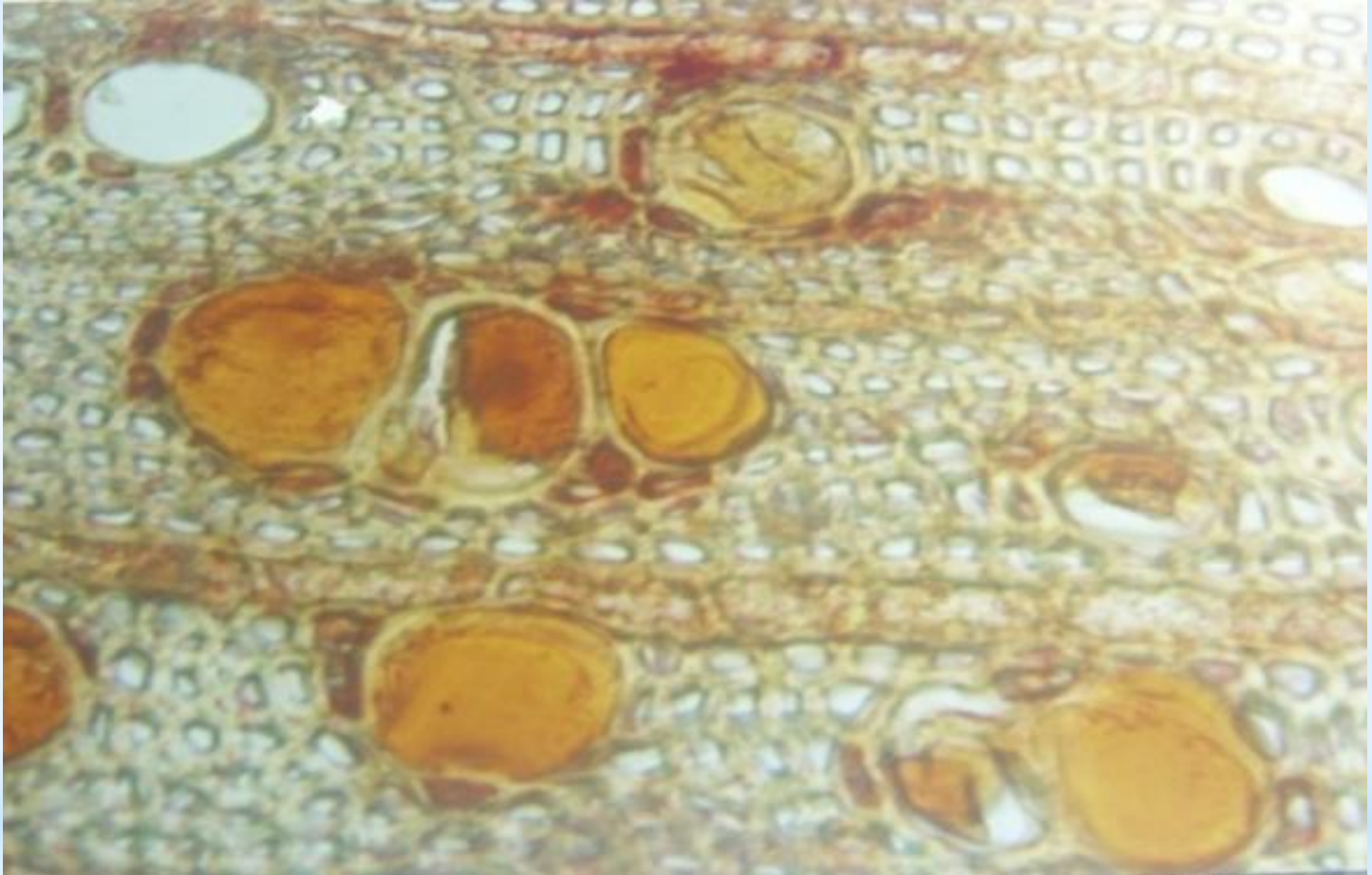
به منظور شناسایی اختصاصی چربی‌های اسیدی مثل اسیدهای چرب آزاد نمونه‌های برش گرفته شده، تثبیت شده و شستشو داده شده را به مدت ۳ دقیقه در الکل اتیلیک ۵۰ درصد قرار دهید. سپس با محلول اشباع و صاف شده سودان سیاه B در الکل اتیلیک ۷۰ درصد به مدت ۱۰ دقیقه رنگ‌آمیزی کنید. نمونه‌ها را مجدداً در الکل اتیلیک ۵۰ درصد به مدت حداقل ۱ دقیقه قرار دهید تا حالت ابری و کدورت نمونه بر طرف شود. سپس نمونه‌ها را دو بار در آب مقطر و هر بار به مدت ۱ دقیقه شستشو دهید و در محیط ژلاتینی روی لام چسبانده، لامل گذاری کنید و بزرگ‌نمایی ۴۰× یا ۱۰۰× مشاهده نمایید. لپیده‌های اسیدی بایستی به رنگ آبی ظاهر شوند.



شناسایی چربی‌های اسیدی در سلول با استفاده از واکنش سودان B سیاه مشاهده با بزرگنمایی  $\times 100$

# شناسایی

جهت شناسایی خنثی مثل روغن و موم مشابه با روش قبل عمل کنید با این تفاوت که به جای استفاده از محلول اشباع شده سودان سیاه B از محلول اشباع شده سودان چهار در الکل اتیلیک ۷۰ درصد استفاده نمایید. چربی‌های خنثی در صورت وجود در سلول اختصاصاً به رنگ نارنجی تا قرمز ظاهر خواهند شد. توجه شود که جهت تهیه محلول اشباع سودان چهار و سودان سیاه B در الکل ۷۰ درصد ۲ تا چند روز قبل از استفاده، این محلول‌ها را تهیه و از قسمت شناور یا رویی برای انجام آزمایش‌ها استفاده کنید.



چربی های خنثی به رنگ نارنجی تا قرمز