प्रयोग 3

वैयक्तिक मानवमितिय मापन और बीएमआई की गणना

प्रयोग की रूपरेखा

3.1 प्रस्तावना

अध्ययन के अपेक्षित परिणाम

3.2 सिद्धांत

3.3 आवश्यक सामग्री

3.4 विधि

3.5 प्रेक्षण और परिणाम

3.6 सावधानियां

3.7 सारांश

3.8 संदर्भ

3.1 प्रस्तावना

मानवमितिय (anthropometric; एंथ्रोपोमेट्रिक) माप सरल, सुरक्षित, गैर–आक्रामक और सस्ती मात्रात्मक विधियों की एक श्रृंखला है जो किसी व्यक्ति के समग्र स्वास्थ्य और पोषण संबंधी खैरियत का आकलन करती है। इसके अलावा, इनका उपयोग शारीरिक स्वास्थ्य निर्धारित करने और स्वास्थ्य की प्रगति की निगरानी के लिए आधार रेखा के रूप में किया जा सकता है। ये माप शरीर के आकार और संरचना के साथ–साथ शरीर में वसा और कंकाल की मांसपेशियों के वितरण और समय की अवधि में जानकारी देते हैं; पोषक तत्वों की कमी या अतिरिक्त कैलोरी और प्रोटीन भंडार की पहचान कर सकते हैं। अनेक व्यक्तियों को मापने के लिए एंथ्रोपोमेट्री का उपयोग यह निर्धारित करने के लिए किया जा सकता है कि जनसंख्या में कुपोषण एक समस्या है या नहीं।

अध्ययन के अपेक्षित परिणाम

इस प्रयोग को पढ़ने के बाद आप सक्षम होंगे कि :

- शरीर के आकार, वजन और शरीर के अनुपात का आकलन करने के लिए एंथ्रोपोमेट्री के उपयोग को समझ सकेंगे;
- मानवमितीय मापन करने के लिए प्रयोग करें; और
- संबंधित माप के लिए संदर्भ मानों का उपयोग करते हुए मानवमितीय डाटा की व्याख्या करें।

3.2 सिद्धांत

शरीर के आकार, वजन और शरीर के अनुपात का मूल्यांकन करने के लिए एंथ्रोपोमेट्री का व्यापक रूप से उपयोग किया जा रहा है और इसलिए इसका उपयोग कम या अधिक पोषण, कम वजन या मोटापे के निर्धारण के लिए नैदानिक मानदंड के रूप में किया जा सकता है। तेजी, व्याख्या में आसनी और व्यक्तियों के बड़े समूह के लिए प्रयोज्यता एंथ्रोपोमेट्री को उपयोगी बनाती है। इसके अतिरिक्त, एंथ्रोपोमेट्रिक मापन वयस्कों, किशोरों और बच्चों पर लागू किया जा सकता है।

मोटपा एक ऐसी स्थिति को संदर्भित करता है जिसमें शरीर में अतिरिक्त वसा जमा हो जाती है और किसी व्यक्ति के स्वास्थ्य और कल्याण पर प्रतिकूल प्रभाव डालती है। यह मुख्य रूप से ऊर्जा सेवन और व्यय के बीच असंतुलन के कारण उत्पन्न होता है, जब ऊर्जा का सेवन व्यय से अधिक हो जाता है। इसलिए, मोटापे को आमतौर पर उपापचयी अस्वस्थता कहा जाता है और वर्षों से यह एक प्रमुख सार्वजनिक स्वास्थ्य समस्या के रूप में उभरा है। इसके अलावा, मोटापा हृदय रोगों, उच्च रक्तचाप, मधुमेह मेलिटस और कई अन्य जैसे गंभीर स्वास्थ्य परिणामों से जुड़ा हुआ है।

एंथ्रोपोमेट्री में मुख्य मापदंडों में ऊंचाई (शरीर का कद), वजन, बॉडी मास इंडेक्स (बीएमआई), शरीर की परिधि (कमर, कूल्हे और अंग), और त्वचा की मोटाई का माप शामिल हैं।

कद

ऊंचाई के माप का उपयोग कंकाल वृद्धि के लिए एक सूचकांक के रूप में किया जा सकता है और यह किसी व्यक्ति के पिछले पोषण या स्वास्थ्य की स्थिति को भी दर्शाता है। अपर्याप्त आहार की विस्तारित अवधि और भोजन ग्रहण की खराब गुणवत्ताा किसी व्यक्ति की रैखिक विकास दर को धीमा कर सकती है। इस तरह, ऊंचाई की कमी कभी पुराने कुपोषण का संकेतक हो सकती है।

वजन

पोषण की स्थिति का मूल्यांकन करने के लिए यह सबसे व्यापक रूप से इस्तेमाल किया जाने वाला, सरल और पुनरूत्पादित माप है। शरीर का वजन शरीर में मौजूद प्रोटीन, वसा, पानी और हड्डी के द्रव्यमान का योग है। जब इसे आयु से संबंधित किया जाता है तो शरीर का वजन वर्तमान पोषण की स्थिति को दर्शाता है। शरीर के फ्रेम और कद के लिए वजन के मानक तालिकाओं से किसी भी व्यक्ति का आदर्श वजन प्राप्त किया जा सकता है। हालांकि, कुछ स्थितियों में जहां शरीर के कुल पानी/तरल पदार्थ में सापेक्ष वृद्धि होती है, जैसे एडिमा, जलोदर (पेट की गुहा में तरल पदार्थ) आदि; शरीर के वजन का माप सटीक वजन की स्थिति नहीं दे सकता है। इसलिए, शरीर के वजन की उत्पत्ति के बारे में अधिक जानकारी इकट्ठा करने के लिए अतिरिक्त मानवमितीय माप (जैसे, मध्य–ऊपरी भुजा–परिधि) भी निर्धारित किया जाना चाहिए।

मध्य ऊपरी भुजा परिधि (एमयूएसी)

एमयूएसी बाएं ऊपरी बांह की परिधि है और कंधे और कोहनी की सिरों के बीच मध्य–बिंदु पर मापा जाता है। बांह में चमड़े के नीचे की वसा और मांसपेशियां दोनों

होती हैं और मध्य ऊपरी बांह की परिधि का माप मांसपेशियों का वजन या चमड़े के नीचे की वसा या दोनों की स्थिति को दर्शाता है। एमयूएसी में कोई भी कमी शरीर में वसा भंडार की कमी और मांसेपेशियों को बर्बाद करने का संकेत देती है। बढ़ी हुई एमयूएसी हालांकि, बढ़ी हुई चमड़े के नीचे की वसा को दर्शाती है और मोटापे का संकेत दे सकती है। एमयूएसी मापन का उपयोग पोषण चिकित्सा के प्रभाव की निगरानी के लिए भी किया जाता है। एमयूएसी को अकाल जैसी आपात स्थितियों में प्रोटीन–ऊर्जा कुपोषण की जांच के लिए भी उपयोग किया गया है।

एमयूएसी माप का उपयोग सभी आयु समूहों के लिए किया जा सकता है और वजन जैसे अन्य मानवमितीय मापों के साथ अच्छी तरह से सहसंबद्ध किय जा सकता है। परिधि माप का पता लगाना आसान है और केवल न्यूनतम समय और उपकरण की आवश्यकता होती है। पोषण संबधी एडिमा, पेरी–ऑर्बिटल एडिमा और जलोदर के दौरान द्रव के संचय से एमयूएसी, वजन और ऊंचाई–आधारित सूचकांक (जैसे बॉडी मास इंडेक्स) से कम प्रभावित होता है।

कमर की परिधि (WC) और कूल्हे की परिधि (HC)

ये सूचकांक शरीर में वसा क वितरण में भिन्नता का आकलन करने में मदद करते हैं, जो मानव शरीर में मौजूद वसा की मात्रा से अधिक प्रासंगिक है। शरीर में वसा मुख्य रूप से या तो आवश्यक लिपिड (essential lipid; एसेन्शियल लिपिड) या भंडारण वसा के रूप में जमा होती है। आवश्यक लिपिड मुख्य रूप से अस्थि मज्जा, केंद्रीय तंत्रिका तंत्र, स्तन ग्रंथियों और विभिन्न अंगों में मौजूद होते हैं जहां सामान्य शारीरिक क्रियाओं के लिए इनकी आवश्यकता होती है। भंडारण वसा से तात्पर्य अंगों के आसपास मौजूद वसा, चमड़े के नीचे की वसा और अंतर और अंतरा मांसपेशीय वसा से है।

कमर/पेट की परिधि (WC), कूल्हे/लसदार परिधि (HC) और कमर से कूल्हे की परिधि अनुपात (WHR) की माप व्यापक रूप से पेट की चर्बी के संचय का आकलन करने के लिए उपयोग की जाती है, जो समग्र मोटापे से स्वतंत्र मोटापा संबंधित बीमारियों का एक निर्धारण कारक है; समग्र मोटापे से स्वतंत्र। इसके अलावा, वैज्ञानिक डेटा अब सुझाव देते हैं कि किसी दिए गए बीएमआई मूल्य के लिए, भारतीयों सहित एशियाई लोगों में आमतौर पर सफेद जातीय आबादी की तुलना में शरीर में वसा का प्रतिशत अधिक होता है। इस प्रकार, एशियाई भारतीयों को बीएमआई और डब्ल्यूसी के निचले स्तर पर मोटापे से संबंधित सह–रूग्णता विकसित होने का खतरा रहता है। इसलिए, एशियाई भारतीय वयस्कों के लिए WC के संदर्भ मूल्यों को संशोधित किया गया है (मिश्रा et al; 2009) और तालिका 3.1 के रूप में दिए गए हैं:

तालिका 3.1 : एशियाई भारतीय वयस्कों के लिए कमर की परिधि

लिंग	डब्ल्यूसी (सेमी) कट–ऑफ		WHR कट–ऑफ
	स्तर 1	स्तर 2	
औरतें	72 सेमी	80 सेमी	0.80
पुरूष	78 सेमी	90 सेमी	0.88

संदर्भ : मिश्रा एट अल, 2009

स्तर 1 में WC वाले किसी भी व्यक्ति को वजन बढ़ाने से बचना चाहिए और लगातार शारीरिक गतिविधि की दिनचर्या बनाए रखनी चाहिए।

स्तर 2 में WC वाले किसी भी व्यक्ति को वजन कम करने के प्रयास करने चाहिए और पोषण परामर्श के माध्यम से मदद ले सकते हैं। मोटापा संबंधित जोखिम कारकों की जांच और प्रबंधन के लिए चिकित्सा सहायता लेना भी फायदेमंद हो सकता है।

जैसा कि दिखाया गया है महिलाओं और पुरूषों के लिए क्रमशः WHR के 0.80 और 0.88 के कट–ऑफ इष्टतम पाए गए (मिश्रा एट अल, 2009)।

अब यह अनुशंसा की जाती है कि मेटाबोलिक सिंड्रोम के भविष्यवक्ता के रूप में WHR की तुलना में कमर से ऊंचाई का अनुपात (WHtR) एक बेहतर मानवमितीय सूचकांक (एंथ्रोपोमेट्रिक इंडेक्स) होगा। अध्ययनों से पता चलता है कि WHtR (>0.52) के एकल मूल्य, लिंग और निवास स्थान की परवाह किए बिना, उन व्यक्तियों की पहचान करने के लिए उपयोग किया जा सकता है जो उपापचय संबंधी जटिलताओं के विकास के लिए उच्च जोखिम में हो सकते हैं। इस प्रकार, WHtR प्रारंभिक स्वास्थ्य जोखिम का संकेतक हो सकता है।

बॉडी मास इंडेक्स (बीएमआई)

वजन से ऊंचाई का अनुपात, जो ऊंचाई के सापेक्ष शरीर के वजन को इंगित करता है, अधिक वजन और मोटापे का एक उपयोगी माप देता है। वर्तमान में, सबसे अधिक इस्तेमाल किया जाने वाला अनुपात बॉडी मास इंडेक्स (बीएमआई) है, जो कि किलोग्राम में वजन जिसे मीटर वर्ग (किलो/मी) में ऊंचाई से विभाजित किया जाता है का अनुपात है। बीएमआई वयस्कों में कम वजन, अधिक वजन और मोटापे को परिभाषित करने के लिए एक पसंदीदा संकेतक है और अधिक वजन और मोटे वयस्कों को वर्गीकृत करने के लिए इसका व्यापक रूप से उपयोग किया जाता है। खान–पान और जीवनशैली की आदतों में अवांछित बदलावों के कारण मोटापा भारत में एक महत्वपूर्ण स्वास्थ्य समस्या बनता जा रहा है। इसलिए भारतीयों के लिए बीएमआई कट–ऑफ को संशोधित किया गया है और अंर्तराष्ट्रीय मानकों के साथ तालिका 3.2 में दिया गया है। इसके अतिरिक्त, त्वचा की तह मोटाई मापने वालों की तुलना में ऊंचाई और वजन मापन आसान, त्वरित और अधिक सटीक होते हैं। हालांकि, बीएमआई मांसपेशियों से जुड़े वजन और शरीर में वसा से जुड़े वजन के बीच अंतर नहीं करता है। तो, कुछ मामलों में, एक उच्च बीएमआई शरीर में अत्यधिक वसा, मांसपेशियों या एडिमा के परिणामस्वरूप हो सकता है। एक उच्च एमयूएसी या कमर परिधि यह इंगित करेगी कि एक ऊंचा बीएमआई वास्तव में अत्यधिक वसा के कारण है। इसके अलावा, बीएमआई शरीर में वसा के वितरण के बारे में कोई जानकारी नहीं देता है।

संकेतक के रूप में बीएमआई का उपयोग करते हुए, कम वजन, अधिक वजन और मोटापे के तीन स्तरों को वर्गीकृत किया गया है जैसा कि तालिका 3.2 में दिखाया गया है।

तालिका 3.2 मोटापे के संकेतक के रूप में बीएमआई

वर्ग	श्रेणी	WHO	भारतीय सहमति
कम वजन	-	<18.5	<18.0
सामान्य	-	18.5-24.9	18-22.9
अधिक वजन	-	25.0-29.9	23-24.9
मोटापा	I II	30.0-34.9 35.0-39.9	>25
अत्यधिक मोटापा	III	>40	

संदर्भ मिश्रा एट अल, 2009; डब्ल्यूएचओ, 1998

3.3 आवश्यक सामग्री

1. डिजिटल वजन पैमाना (वजन माप)

2. एंथ्रोपोमीटर या ऊर्ध्वाधर मापने वाली छड़ (ऊंचाई माप)

3. 0.1 सेमी की संवेदनशीलता के साथ एक गैर–खिंचाव मापने वाला टेप। एमयूएसी; डब्ल्यूसी; एचसी माप लेने के लिए टेप को सीधे लंबवत दीवार पर लगाया जा सकता है।

3.4 विधि

I. वजन मापन

1. तौल पैमाने की शून्य त्रुटि और सटीकता की जांच करें।

2. सुनिश्चित करें कि व्यक्ति कम से कम कपड़ों में और बिना जूतों के है।

3. विषय को तौल पैमाने के मंच के बीच में सीधा खड़ा होना चाहिए और भुजाएँ किनारे पर ढीली लटकी हों। वजन दर्ज करते समय व्यक्ति को कुछ भी नहीं पकड़ना चाहिए और किसी भी सहारे पर नहीं झुकना चाहिए।

4. प्रेक्षण तालिका 3.2 में वजन रीडिंग रिकॉर्ड करें।

II. ऊंचाई मापन

1. व्यक्ति को भुजाओं को ढीला छोड़ कर और सामने देखते हुए एक समतल सतह पर जूतों के बिना सीधा खड़ा होना चाहिए। सुनिश्चित करें कि कान का शीर्ष और आंख का बाहरी कोना फर्श के समानांतर है (फ्रैंकफोर्ट क्षैतिज तल)। पैर एड़ी पर जुड़े होने चाहिए नितंबों, कंधों और सिर के पिछले हिस्से को एंथ्रोपोमीटर या मापने वाली छड़ या टेप के साथ खड़ी दीवार को छूते हुए होना चाहिए। बाल सपाट होने चाहिए।

2. माप लेने से ठीक पहले व्यक्ति को गहरी सांस लेनी चाहि, सांस रोककर रखना चाहिए और एक सीधी मुद्रा में रहना चाहिए। फिर बालों को संपीड़ित करने के लिए पर्याप्त दबाव के साथ मापने वाले उपकरण के हेडपीस को सिर के उच्चतम बिंदु तक कम करें।

3. प्रेक्षण तालिका 3.2 में रिडिंग रिकॉर्ड करें।

III. एमयूएसी मापन

1. व्यक्ति को बायीं भुजा के बगल में ढीले से लटकाकर खड़ा होना चाहिए। बायीं भुजा नंगे होना चाहिए।

2. हाथ को समकोण पर मोड़े और एक पेन, मार्कर से ओलेक्रानोन प्रोसेस (उलना प्रोसेस जो कोहनी की बाहरी गांठ बनाती है) और शोल्डर ब्लेड (कंधे के सबसे बाहरी किनारे) की एक्रोमियन प्रोसेस का पता लगाएं और चिन्हित करें।

3. इन दो निशानों के बीच मध्य–पिंट के चिन्हित करें।

4. हाथ सीधे नीचे लटकाते हुए, लचीले गैर–खिंचाव मापने वाले टेप के साथ मध्य बिंदु के निशान पर परिधि को मापें, मजबूती से लेकिन हाथ को संपीड़ित किए बिना।

5. अवलोकन तालिका 3.2 में माप को निकटतम 0.1 सेमी तक रिकॉर्ड करें। सुसंगत परिणाम प्राप्त करने के लिए माप दो या तीन बार लें।

IV. कमर परिधि मापन

1. व्यक्ति को भुजाओं के साथ सीधा खड़ा होना चाहिए और पेट की मांसपेशियों को आराम से रखना चाहिए।

2. सबसे कम रिब मार्जिन का पता लगाएँ और नाभि के स्तर के बारे में पेट के चारों ओर मापने वाले टेप को रखें। यह कमर परिधि को परिभाषित करता है।

3. मापने वाला टेप त्वचा पर धीरे से टिका होना चाहिए। एक बार मापने वाला टेप सही ढंग से स्थापित हो जाने के बाद, व्यक्ति को सामान्य रूप से सांस लेने और छोड़ने के लिए कहा जाना चाहिए और व्यक्ति के सांस छोड़ने के बाद (अर्थात सामान्य समाप्ति के अंत में) माप किया जाना चाहिए।

4. प्रेक्षण तालिका 3.3 में माप को निकटतम 0.1 सेमी तक रिकॉर्ड करें। सुसंगत परिणाम प्राप्त करने के लिए माप दो या तीन बार लें।

V. हिप परिधि मापन

1. नितंबों या कूल्हों के चारों ओर सबसे बड़ी परिधि के स्थान का पता लगाएँ, जब व्यक्ति पैरों को जोड़ कर खड़ा हो।

2. व्यक्ति के बगल में बैठकर एक क्षैतिज समक्षेत्र (horizontal plane; होरिजोन्टल प्लेन) मापने वाले टेप के साथ परिधि को मापें।

3. नरम ऊतकों को दबाए किए बिना टेप को मजबूती से पकड़ना चाहिए।

4. प्रेक्षण तालिका 3.4 में माप को निकटतम 0.1 सेमी तक रिकॉर्ड करें। सुसंगत परिणाम प्राप्त करने के लिए माप दो या तीन बार लें।

1.5 प्रेक्षण और परिणाम

निम्नलिखित पैरामीटर लेने के लिए प्रयुक्त उपकरण :

वजन :

ऊंचाई :

एमयूएसी :

कमर परिधि :

कूल्हा परिधि :

प्रेक्षण तालिका 3.3

क्र. सं.	व्यक्ति का नाम	लिंग (M/F)	जन्म तिथि/आयु (वर्ष)	वजन			ऊंचाई (से.मी.)			एमयूएसी (से.मी.)		
				W 1	W 2	Avg	H 1	H 2	Avg	M 1	M 2	Avg

प्रेक्षण तालिका 3.4

क्र. सं.	व्यक्ति का नाम	लिंग (M/F)	आयु (वर्ष)	कमर परिधि (से.मी.)			हिप परिधि (से.मी.)			**WHR**		
				WC 1	WC 2	Avg	HC 1	HC 2	Avg	WHR 1	WHR 2	Avg

परिकलित मानवमितीय मापनों की उनके संगत संदर्भ मानों के साथ तालिका 3.5 में तुलना रिकॉर्ड करें।

प्रेक्षण तालिका 3.5

एंथ्रोपोमेट्रिक पैरामीटर	व्यक्ति का नाम	लिंग (M/F)	आयु (वर्ष)	परिकलित मान	संदर्भ मान	अंतर
WC						
HC						

ignou THE PEOPLE'S UNIVERSITY

WHR						

व्यक्तियों के लिए बीएमआई की गणना और बीएमआई के लिए उपयुक्त संदर्भ मूल्य के साथ इसकी तुलना करना। व्यक्तियों के बीएमआई की गणना करने के लिए तालिका 3.6 में वजन और ऊंचाई के प्रेक्षण को रिकॉर्ड करें और अनुमान लगाने के लिए गणना किए गए बीएमआई मूल्यों की तुलना संदर्भ मूल्यों (तालिका 3.7) से करें।

निम्नलिखित पैरामीटर लेने के लिए प्रयुक्त उपकरण

वजन :

ऊंचाई :

प्रेक्षण और गणना

तालिका 3.6 बीएमआई की गणना के लिए ऊंचाई और वजन की रिकॉर्डिंग

क्र. सं.	विषय का नाम	लिंग (M/F)	आयु (वर्ष)	वजन (किग्रा)			ऊंचाई (सेंटीमीटर)			बीएमआई (kg/m^2)		
				W 1	W 2	Avg	H 1	H 2	Avg	B 1	B 2	Avg

बीएमआई = वजन (कि.ग्रा.) / ऊंचाई^2 (मी.^{2})

तालिका 3.7 : संदर्भ मूल्यों के साथ व्यक्तियों के परिकलित बीएमआई की तुलना

क्र. सं.	व्यक्ति का नाम	बीएमआई (परिकलित)	बीएमआई (संदर्भ मूल्य)	अंतर (%)

3.6 सावधानियां

1. हो सके तो वजन सुबह जल्दी लेना चाहिए, खासकर खाली पेट और ब्लैडर।
2. ऊंचाई माप के दौरान, लंबन के कारण त्रुटि से बचने के लिए रीडिंग को आंखों के स्तर पर लिया जाना चहिए।
3. कमर और कूल्हे की परिधि लेने के लिए, मापने वाले टेप को इतना तंग नहीं रखा जाना चाहिए कि यह त्वचा में खोदे, या इतना ढीला हो कि गलत रीडिंग को रोकने के लिए यह गिर जाए।
4. कमर के चारों ओर माप हल्के और कम से कम गैर–प्रतिबंधात्मक कपड़े पहने हुए व्यक्तियों के साथ किया जाना चाहिए (भारी कपड़े कमर के चारों ओर पैडिंग जोड़ सकते हैं), और यदि संभव हो तो, अधिमानतः अंडरक्लॉथ में।

3.7 सारांश

भारत सहित पूरी दुनिया में अधिक वजन और मोटापे की एक प्रचलित बढ़ती प्रवृत्ति के कारण उनके उचित प्रबंधन के लिए इन समस्याओं का शीघ्र पता लगाने की आवश्यकता है। इस संबंध में वजन, एमयूएसी, डब्ल्यूसी, डब्ल्यूएचआर और बीएमआई जैसे सरल, सीखने में आसान और उपयोग में आसान एंथ्रोपोमेट्रिक पैरामीटर का उपयोग किया जा सकता है। इन मापदंडों के डेटा को कुल शरीर में वसा का अनुमान लगाने और किसी व्यक्ति में पेट के मोटापे के लिए जोड़ा जा सकता है। बीएमआई मान सामान्य, अधिक वजन और मोटापे की स्थिति की श्रेणी का संकेत दे सकता है। ये मानवमितीय सूचकांक किसी व्यक्ति के स्वास्थ्य और पोषण कल्याण का मूल्यांकन करने में मदद करेंगे।

3.8 संदर्भ

1. मिश्रा ए. चौबे पी, मक्कड बीएम, विक्रम एनके, वसीर जेएस, चड्डा डी. जोशी एसआर, साविकोट एस, गुप्ता आर, गुलाटी एस, मुंजाल वाईपीय सर्वसम्मति समूह। एश्यिाई भारतीयों के लिए मोटपा, पेट का मोटापा और मेटाबोलिक सिंड्रोम के निदान के लिए सहमति वक्त्व्य और शारीरिक गतिविधि, चिकित्सा और शल्य चिकित्सा प्रबंधन के लिए सिफारिशें। जे असोक फिजिशियन इंडिया। 2009 फरवरीय 57:163—70

2. गिब्सन आर.एस. पोषण मूल्यांकन के सिद्धांत। ऑक्सफोर्ड यूनिवर्सिटी प्रेस, 2005।

3. सेठ वी और सिंह के. डाइट प्लानिंग थ्रू द लाइफ साइकल पार्ट — डाइट थेरेपी ए प्रैक्टिल मैनुअल। एलीट पब्लिशिंग हाउस प्राइवेट लिमिटेड 2013।

ignou
THE PEOPLE'S
UNIVERSITY

प्रयोग 4

सीरम में लिपिड परॉक्सीकरण का मूल्यांकन

प्रयोग की रूपरेखा

4.1 प्रस्तावना

अध्ययन के अपेक्षित परिणाम

4.2 सिद्धांत

4.3 आवश्यक सामग्री

4.4 विधि

4.5 प्रेक्षण और परिणाम

4.6 सावधानियां

4.7 सारांश

4.8 संदर्भ

4.1 प्रस्तावना

कोशिकी ऑक्सीकारक तनाव प्रतिक्रियाशील ऑक्सीजन प्रजातियों (आरओएस) की उत्पत्ति द्वारा अभिलक्षित होता है जो एंजाइम, झिल्ली लिपिड, न्यूक्लिक एसिड और अन्य अणुओं को नुकसान पहुंचा सकते हैं। लिपिड परॉक्सीकरण (peroxidation; परोक्सीडेशन) का आकलन लिपिड पर ऑक्सीकारक तनाव के प्रभाव का अध्ययन करने के लिए महत्वपूर्ण मापदंडों में से एक है। लिपिड परॉक्सीकरण तंत्र में असंतृप्त लिपिडों का ऑक्सीकरण शामिल होता है, विशेष रूप से बहुअसंतृप्त लिपिड परॉक्साइड और विषाक्त उपोत्पाद बनाते हैं। लिपिड परॉक्साइड अत्यधिक अस्थिर होते हैं और कार्बोनिल यौगिकों की एक श्रृंखला बनाने के लिए विघटित होते हैं जो आगे मैलोनल्डिहाइड (MDA) उत्पन्न करने के लिए अभिक्रिया करते हैं। एमडीए लिपिड परॉक्सीकरण के दौरान बहुतायत में मोचित होते हैं और इस प्रकार इसके माप का उपयोग लिपिड परॉक्सीकरण के लिए एक संकेतक के रूप में किया गया है।

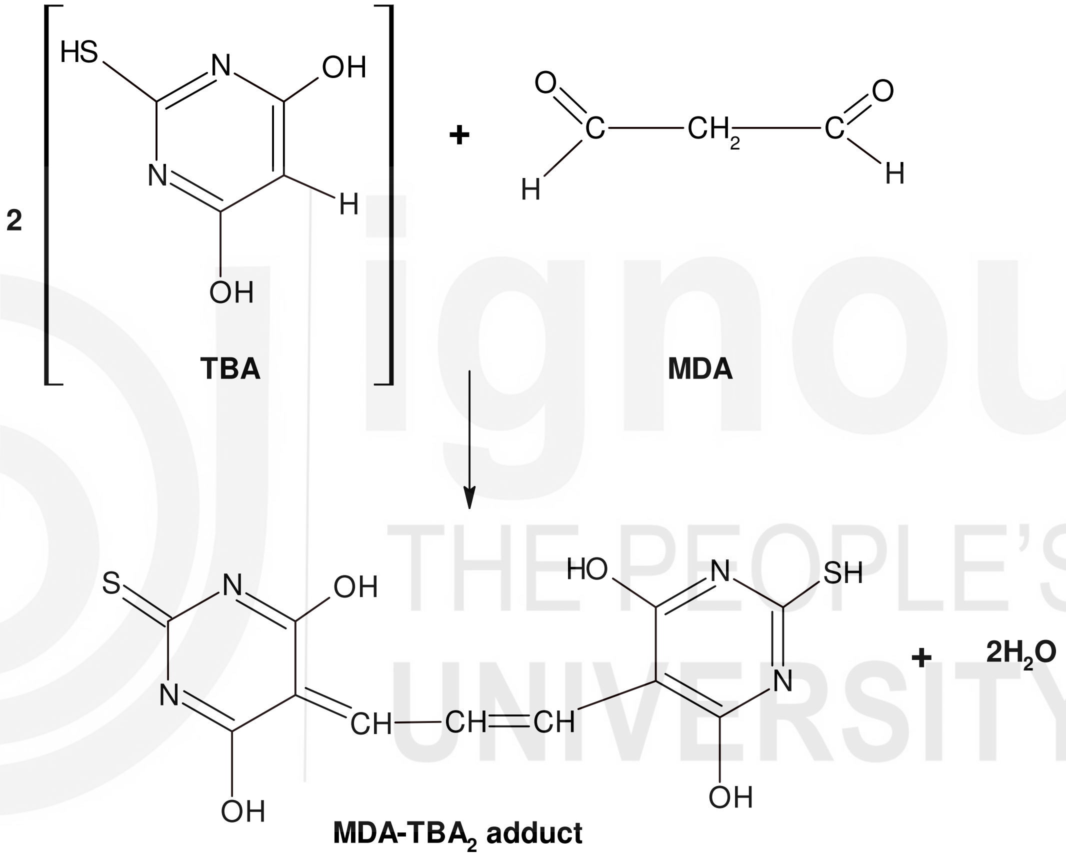
अध्ययन के अपेक्षित परिणाम

इस प्रयोग को पढ़ने के बाद आप सक्षम होंगे कि :

- कोशिकाओं में ऑक्सीकारक तनाव और लिपिड परॉक्सीकरण के संबंध को समझ सकेंगे; और
- नमूने में उत्पन्न एमडीए और थियोबार्बिटयूरिक एसिड प्रतिक्रियाशील पदार्थों (TBARS, Thiobarbituric acid reactive substances) का अनुमान लगाने के लिए प्रयोग करें।

4.2 सिद्धांत

थायोबार्बिट्यूरिक एसिड परीक्षण लिपिड पेरोक्सीकरण की जांच और निगरानी के लिए एक अच्छी तरह से स्थापित परख है। यह विधि ऑक्सीजन की उपस्थिति में लिपिड परॉक्सीकरण के परिणामस्वरूप बनने वाले मैलोनडीएल्डिहाइड और थायोबार्बिट्यूरिक अम्ल प्रतिक्रियाशील पदार्थों (TBARS) के परिमाणीकरण और थायोबार्बिट्यूरिक अम्ल का उपयोग कर इसके निर्धारण पर आधारित है। इस परीक्षण में, एमडीए का एक अणु 80-90℃ पर अम्लीय माध्यम में टीबीए के दो अणुओं के साथ अभिक्रिया करता है। इसके परिणामस्वरूप 532 nm पर अधिकतम अवशोषण के साथ रंगीन उत्पाद का निर्माण होता है (चित्र 4.1)।



चित्र 4.1 : टीबीए और एमडीए के बीच अभिक्रिया और रंगीन युग्मक निर्माण।

4.3 आवश्यक सामग्री

1. 20% ट्राइक्लोरोएसेटिक अम्ल (TCA) विलयनः 20 ग्राम TCA को 100 मिली विआयनीकृत पानी में घोलें।

2. 0.67% थायोबार्बिट्यूरिक एसिड (टीबीए) विलयनः 0.67 ग्राम टीबीए को 100 मिलीलीटर 0.05 N NaOH में घोलें।

3. 0.1 N HCl

4.4 विधि

क. 1,1,3,3–टेट्रा एथॉक्सी प्रोपेन (TEP) का मानक वक्र प्लॉट करना

1. वॉल्यूमेट्रिक फ्लास्क में टीईपी का 10 mM स्टॉक विलयन तैयार करें।
2. इस स्टॉक विलयन को उपयोग करने से ठीक पहले 0.1 N HCl में 1:1000(v/v) तनु करें ताकि 10 MM वर्किंग मानक विलयन मिल सके।
3. इस वर्किंग मानक विलयन का क्रमशः 0.2 मि.ली., 0.4 मि.ली., 0.6 मि.ली., 0.8 मि.ली. और 1.0 मि.ली. अपकेन्द्रित्र नलियों में ले। ये मात्राएं TEP का क्रमशः 2 नैनोमोल, 4 नैनोमोल, 6 नैनोमोल, 8 बैनोमोल और 10 नैनोमोल के बराबर हैं।
4. 1.0 मिलीलीटर आसुत जल से एक रिक्त तैयार करें।
5. फिर प्रत्येक ट्यूब में 0.67% बार्बिट्यूरिक एसिड का 750 माइक्रोलीटर डालें।
6. प्रत्येक ट्यूब में 0.1 N HCl के साथ अंतिम मात्रा 3 मिलीलीटर तक बनाएं।
7. नमूनों को 80-90℃ पर 45 मिनट के लिए उष्मायित करें।
8. नमूनों को कमरे के तापमान पर ठंडा करें।
9. 10 मिनट के लिए 5000 rpm पर अपकेन्द्रित करें और अधिप्लवी (supernatant; सुपरनेटेन्ट) को एक अलग ट्यूब में पृथक कर लें।
10. स्पेक्ट्रोफोटोमीटर को ''रिक्त'' विलयन के साथ सेट करें और 532 nm अवशोषणांक नोट करें। रिक्त का अवशोषणांक ट्यूबों से घटाया जाना चाहिए। स्पेक्ट्रोफोटोमीटर को स्वचालित रूप से नमूनों से रिक्त के अवशोषणांक को घटनाने के लिए भी सेट किया जा सकता है।
11. मानकों के लिए 532 nm पर अवशोषणांक को पढ़ें और प्रेक्षण तालिका 4.1 में दर्ज करें।
12. x-अक्ष पर MDA की सांद्रता और y-अक्ष पर संगत अवशोषणांक लेकर एक मानक ग्राफ तैयार करें।

ख. प्लाज्मा के नमूने

पांच मिलीलीटर रक्त निकालें 4000 rpm पर अपकेन्द्रित करें और प्लाज्मा को पृथक करें और विश्लेषण तक -20°C पर संग्रहित कीजिए।

ग. नमूनों में एमडीए अनुमान

1. 250 µl प्लाज्मा लें और इसे 750 µl 20% TCA के साथ अच्छी तरह मिलाएं।
2. 0.67% थायोबार्बिट्यूरिक अम्ल का 750 µl डालें।
3. 1.0 मिलीलीटर आसुत जल से एक 'रिक्त' तैयार करें।

4. नमूनों को 80–90 डिग्री सेल्सियस पर 45 मिनट के लिए उष्मायित करें।

5. कमरे के तापमान के लिए नमूने को ठंडा कीजिए।

6. 10 मिनट के लिए 5000 rpm पर अपकेन्द्रित करें और एक अलग ट्यूब में अधिप्लवी को स्थानांतरित करें।

7. स्पेक्ट्रोफोटोमीटर को "रिक्त" विलयन के साथ सेट करें और 532 nm पर अवशोषणांक नोट करें। रिक्त का अवशोषणांक मानक ट्यूबों से घटाया जाना चाहिए। स्पेक्ट्रोफोटोमीटर का स्वचालित रूप से नमूनों से रिक्त के अवशोषणांक को घटाने के लिए भी सेट किया जा सकता है।

8. 532 nm पर गुलाबी रंग के अधिप्लवी के अवशोषणांक को रिकॉर्ड करें और प्रेक्षण तालिका 4.2 में दर्ज करें।

9. एमडीए का स्तर मानक वक्र से निर्धारित किया जाएगा।

4.5 प्रेक्षण और परिणाम

प्रेक्षण तालिका 4.1

क्र. सं.	मानक विलयन की मात्रा (मि.ली.)	TEP की सांद्रता (n mol)	TBA विलयन की मात्रा (मि.ली.)	0.1 N HCl की मात्रा (मि.ली.)	532 nm पर अवशोषणांक
1	0.2	2	0.75	2.05	
2	0.4	4	0.75	1.85	
3	0.6	6	0.75	1.65	
4	0.8	8	0.75	1.45	
5	1.0	10	0.75	1.25	

रिक्त = 1.0 मि.ली. आसुत जल + 0.75 मि.ली. TBA + 1.25 मि.ली. 0.1 N HCl

प्रेक्षण तालिका 4.2

क्र. सं.	नमूना विलयन की मात्रा (मि.ली.)	TCA की मात्रा (मि.ली.)	TBA की मात्रा (मि.ली.)	532 nm पर अवशोषणांक	औसत अवशोषणांक
1	0.25	0.75	0.75		
2	0.25	0.75	0.75		

रिक्त = 0.25 मि.ली. आसुत जल + 0.75 मि.ली. TCA + 0.75 मि.ली. TBA

परिकलन

Y-अक्ष पर अवशोषणांक के विरूद्ध X-अक्ष पर TEP के n moles में सांद्रता के साथ एक मानक ग्राफ प्लॉट करें। ग्राफ से, सीरम नमूने में n moles (x) में उत्पन्न लिपिड पेरोक्साइड का मान निर्धारित करें।

तो, 0.25 मिलीलीटर सीरम में .... n moles(x) है।

इसलिए, 1.0 मि.ली. सीरम में (x)/0.25 × 1.0 = ... (y) n mole/ml होता है।

परिणाम

प्लाज्मा में निहित लिपिड परॉक्साइड .... n moles/ml हैं।

4.6 सावधानियां

1. टीबीए अभिकर्मक तैयारी के लिए ऊष्मा और हिलाने की आवश्यकता हो सकती है।
2. तैयारी के बाद तीन दिनों के भीतर कार्य मानकों का उपयोग किया जाना चाहिए।
3. सही तापमान पर पहुंचने के बाद ही नमूनों का जल उष्मक में उष्मायित करें।

4.7 सारांश

लिपिड परॉक्सीकरण लिपिड पर ऑक्सीकारक तनाव के प्रभाव का आकलन करने के लिए सबसे व्यापक रूप से रिपोर्ट किए गए विश्लेषणों में से एक है। एल्डिहाइड हमेशा लिपिड परॉक्सीकरण के दौरान उत्पन्न होते हैं, जो आमतौर पर ऑक्सीकारक तनाव के स्वीकृत मार्कर/चिन्हक होते हैं। इन यौगिकों को दोनों, लिपिड परॉक्सीकरण की सीमा के सूचकांक के रूप में और कुछ रोग स्थितियों में प्रेरक एजेंटों के रूप्ज्ञ में एल्डिहाइड की भूमिका को समझने के लिए मापना महत्वपूर्ण है। परख में मैलोनाल्डिहाइड और TBA प्रतिक्रियाशील पदार्थों को लिपिड परॉक्सीकरण की सीमा को मापने के लिए परिमाणित किया गया था।

4.8 संदर्भ

1. डीसेट जे.सी, ट्रौइल एम, फोग्लिएटी एम.जे। मायोकार्डियल रोधगलन के दौरान प्लाज्मा मैलोनाल्डिहाइड का स्तर। क्लिन चिम एक्टा। 1983 अप्रैल 25,129(3):319–22
2. एस्टरबॉयर एच, चीजमैन केएच एल्डिहाइड लिपिड पेरोक्सीडेशन उत्पादों का निर्धारणः मैलोनाल्डिहाइड और 4–हाइड्रॉक्सिनोनल। तरीके एंजाइम। 1990,186:407–21

ignou
THE PEOPLE'S
UNIVERSITY

प्रयोग 5

रक्त में सुपरऑक्साइड डिसम्यूटेज की एंजाइम गतिविधि का निर्धारण

प्रयोग की रूपरेखा

5.1 प्रस्तावना

अध्ययन के अपेक्षित परिणाम

5.2 सिद्धांत

5.3 आवश्यक सामग्री

5.4 विधि

5.5 प्रेक्षण और परिणाम

5.6 सावधानियां

5.7 सारांश

5.8 संदर्भ

5.1 प्रस्तावना

विभिन्न अन्तराकोशिकी (इंट्रासेल्युलर) ऑक्सीकारक प्रक्रियाओं के परिणामस्वरूप ऑक्सीजन मुक्त मूलक (free radical; फ्री रेडीकल) और अन्य प्रतिक्रियाशील ऑक्सीजन प्रजातियों (ROS) का उत्पादन हो सकता है। ये सभी प्रमुख कोशिकी घटकों के साथ अभिक्रिया करते हैं और ऊतकों को नुकसान पहुंचाते हैं जिससे ऑक्सीकारक तनाव होता है। ROS की अभिक्रियाओं में प्रोटीन, डीएनए का ऑक्सीकरण, साथ ही प्लाज्मा और ऑर्गेनेल झिल्ली के फॉस्फोलिपिड का लिपिड परॉक्सीकरण शामिल हैं। ऐसे हानिकारक प्रभावों से खुद को बचाने के लिए, कोशिकाओं ने ROS को हटाने के कई तरीके विकसित किए हैं। जीवों में रेडॉक्स समस्थापन (homeostasis; होमियोस्टैसिस) को बनाए रखने के लिए प्रतिऑक्सीकारक रक्षा प्रणाली महत्वपूर्ण (antioxidant; एंटीऑक्सीडेंट) है। इस रक्षा प्रणाली में एंजाइमी और गैर–एंजाइमी घटक शामिल हैं जो वायवीय (aerobic; एरोबिक) उपापचय के दौरान ROS के निरंतर उत्पादन को बेअसर कर सकते हैं। मुख्य एंजाइम सुपरऑक्साइड डिसम्यूटेज (SOD), कैटेलेज (CAT), ग्लूटाथियोन पेरोक्सीडेज और ग्लूटाथियोजन रिडक्टेस हैं। इन एंजाइमों को विभिन्न जीवों में ऑक्सीकारक तनाव को मापने के लिए जैव चिन्हक (biomarker; बायोमार्कर) के रूप में प्रस्तावित किया गया है।

अध्ययन के अपेक्षित परिणाम

इस प्रयोग को पढ़ने के बाद आप सक्षम होंगे कि :

- ❖ कोशिकाओं में मुक्त मूलकों को हटने में एंजाइमों की भूमिका को समझ सकेंगे; और
- ❖ रक्त हीमोलिसेट (hemolysate) नमूने में एंजाइम सुपरऑक्साइड डिस्म्यूटेज की गतिविधि को निर्धारित करने के लिए प्रयोग करें।

5.2 सिद्धांत

सुपरऑक्साइड डिसम्यूटेज (SOD) (EC 1.15.1.1) सबसे महत्वपूर्ण प्रति–ऑक्सीकारक एंजाइम में से एक है। यह एक मेटालोप्रोटीन (metalloprotein) है जो सुपरऑक्साइड मुक्त मूलकों के आणविक ऑक्सीजन और हाइड्रोजन परॉक्साइड में विघटन को उत्प्रेरित करता है।

$$2O_2^{-*} + 2H^+ \xrightarrow{\text{Superoxide dismutase}} O_2 + H_2O_2$$

SOD की गतिविधि को मापने के लिए प्रयोगात्मक स्थिति में उत्पन्न सुपरऑक्साइड आयनों पर निर्भर अभिक्रिया के संदमन का अध्ययन कर सकते हैं। यहाँ, इस परीक्षण में सुपरऑक्साइड आयन पाइरोगॉल के ऑटो–ऑक्सीकरण द्वारा उत्पन्न होते हैं। पाइरोगॉलोल को तेजी से ऑटोऑक्सीकृत करने के लिए जाना जाता है, खासकर क्षारीय घोल में। उत्पन्न सुपरऑक्साइड आयन 540 nm पर अवशोषणांक वाले रंगीन फॉर्मेजान डाई उत्पाद (NBT-formazan) के लिए सब्सट्रेट नाइट्रोब्लू ट्रेटाजोलियम (NBT) के अपचयन को आरंभ करते हैं।

$$\text{NBT} + 2O_2^- \longrightarrow \text{NBT} - \text{formazan} + O_2$$

इस सेट अप में SOD को जोड़ने से सुपरऑक्साइड आयन का स्तर कम हो जाएगा, जिससे एनबीटी–फॉर्मेजन गठन की दर कम हो जाएगी। प्रायोगिक नमूने SOD गतिविधि को NBT-फॉर्मेजन डाई गठन की दर से प्रतिशत संदमन के रूप में मापा जाता है। 50% संदमन SOD की एक इकाई के बराबर होता है। SOD के बिना 'रिक्त' उत्पाद निर्माण में कोई अवरोध नहीं दिखाता है।

5.3 आवश्यक सामग्री

1. 6% ट्राइक्लोरोएसेटिक एसिड (TCA) : 6.0 ग्राम TCA लें और 100 मिलीलीटर आसुत जल में घोल बनाएं।

2. ट्रिस–कैकोडिलेट (Tris-Cacodylate) बफर (50 mm, pH = 8.2) (SOD बफर) : आसुत जल में 50 mm Tris-cacodylate बफर तैयार करें और पीएच को HCl के साथ 8.2 में समायोजित करें। 4°C पर संग्रहित करें।

3. ट्राइटन एक्स–100 (0.01%) : 0.01% विलयन प्राप्त करने के लिए 10 µl ट्राइटन एक्स –100 लें और पानी के साथ 100 मिलीलीटर तक बनाएं।

4. नाइट्रोब्लू टेट्राजोलियम (NBT) क्लोराइड (1 mm) : आसुत जल में 1 mm ताजा तैयार करें।

5. पाइरोगैलॉल (1,2,3-Trihydroxybenzene; 60 mm) : आसुत जल में तैयार करें।

5.4 विधि

1. 200 μl रक्त लें और आसुत जल के 800 μl के साथ तनु करें।

2. रक्तलयन (hemolysis; हेमोलिसिस) के लिए 10 मिनट के लिए 4°C पर उष्मायित करें।

3. रक्त प्रोटीन के अवक्षेपण (precipitation; प्रेसीपिटेशन) के लिए 1.0 मिली 6% ट्राइक्लोरोएसेटिक एसिड विलयन डालें।

4. 10 मिनट के लिए 3000 rpm पर अपकेन्द्रित करें और अधिप्लवी को एक अलग ट्यूब में इकट्ठा करें।

5. 180 सेकंड के लिए 540 nm की तरंग दैर्ध्य पर हर 15 सेकंड में रिकॉर्ड करने के लिए स्पेक्ट्रोफोटोमीटर गतिज कार्यक्रम पर सेट करें। SOD बफर युक्त रिक्त अभिकर्मक के साथ शून्य पढ़ने के लिए इसे समायोजित करें।

6. तालिका 5.1 में दिए गए अनुसार एक नियंत्रण और दो नमूना ट्यूब तैयार करें।

प्रेक्षण तालिका 5.1

विलयन	रिक्त	कंट्रोल नली	नमूना नली
हीमोलाइसेट	-	-	0.1 ml
आसुत जल	-	0.9 ml	0.8 ml
SOD बफर	2.4 ml	1.5 ml	1.5 ml
ट्राइटॉन x-100	0.3 ml	0.3 ml	0.3 ml
पाइरोगैलॉल	10.0 μl	10.0 μl	10.0 μl
NBT (1 mM) (आखिर में डालें)	0.3 ml	0.3 ml	0.3 ml

1. ट्यूबों का अवशोषणांक 180 सेकंड के लिए 15 सेकंड के अंतराल पर 540 nm पर मापा गया था। अवशोषणांक में वृद्धि पाइरोगैलॉल के स्वऑक्सीकरण (autooxidation) द्वारा इंगित की जाती है।

2. प्रेक्षण तालिका 5.2 में रीडिंग रिकॉर्ड करें।

5.5 प्रेक्षण और परिणाम

प्रेक्षण तालिका 5.2

Time (sec)	540 nm पर अवशोषणांक			
	कंट्रोल नली I	नमूना नली I	नमूना नली II	नमूना नलियों I और II की औसत अवशोषणांक
0				
15				
30				
45				
60				
75				
90				
105				
120				
135				
150				
165				
180				

180 सेकन्ड के लिए $\Delta OD_{\text{नमूना}}$ = 180 सेकंड पर अवशोषणांक$_{\text{नमूना}}$ – 0 सेकंड पर अवशोषणांक$_{\text{नमूना}}$

60 सेकन्ड के लिए $OD_{\text{नमूना}}$ = 180 सेकंड पर अवशोषणांक$_{\text{नमूना}}$ – 0 सेकंड पर अवशोषणांक$_{\text{नमूना}}$

$OD_{\text{कंट्रोल}}$ = 180 सेकंड पर अवशोषणांक$_{\text{कंट्रोल}}$ – 180 सेकंड पर अवशोषणांक$_{\text{किंट्रोल}}$

$OD_{\text{कंट्रोल}}$ = 180 सेकंड पर अवशोषणांक$_{\text{कंट्रोल}}$ – 0 सेकंड पर अवशोषणांक$_{\text{कंट्रोल}}$ × 60

एनबीटी अपचयन का प्रतिशत (y%)

= 60 सेकंड के लिए $\Delta OD_{\text{कंट्रोल}}$ – 60 सेकंड के लिए ओडी$_{\text{नमूना}}$ × 100

= .... × 100

= .... (y) 60 सेकंड (एक मिनट) में 0.1 मिली नमूने द्वारा उत्पादित संदमन का (y%)

लेकिन, एसओडी एंजाइम गतिविधि की एक इकाई एंजाइम की मात्रा से मेल खाती है जिसके परिणामस्वरूप परख स्थितियों के तहत एक मिनट में एनबीटी के अपचयन में 50% की कमी होती है।

तो, 50% संदमन = SOD की 1 इकाई

.... (y%) संदमन = 1/50 × .... (y%) = ... (z) SOD की इकाई

लेकिन, 0.1 मिलीलीटर नमूने से एसओडी की .... (z) इकाई है।

तो, 0.1 मिली में .... (z)/0.1×1 है जो SOD के .... (A) इकाई के बराबर है।

तो, 1.0 ml नमूने में एसओडी की .... इकाई मौजूद हैं।

परिणाम

दिए गए नमूने में SOD एंजाइम गतिविधि SOD की .... इकाई/मि.ली./मिनट है।

5.6 सावधानियां

1. एनबीटी को अंत में डाला जाना चाहिए।

2. एक बार विलयन जोड़े जाने के बाद, तुरंत क्युवेट को स्पेक्ट्रोफोटोमीटर में रखें और संकेतित समय पर अवशोषणांक रिकॉर्ड करें।

3. प्रत्येक अभिकर्मक को उपयोग से पहले थोड़ी देर हिलाएं।

5.7 सारांश

सुपरऑक्साइड डिसम्यूटेज (एसओडी) सुपरऑक्साइड मूलकों को परिमार्जन करके और आणविक ऑक्सीजन और कम हानिकारक हाइड्रोजन पेरोक्साइड में परिवर्तित करके इनकी विषाक्तता के खिलाफ एक महत्वपूर्ण रक्षा प्रदान करता है। SOD की गतिविधि को निर्धारित करने के लिए NBT परीक्षण का उपयोग किया जाता है। इस परख में NBT नीले रंग का यौगिक बनाने के लिए सुपरऑक्साइड आयनों द्वारा अपचयन से गुजरता है। एसओडी की उपस्थिति सुपरऑक्साइड आयन सांद्रता को कम करती है जिसके परिणामस्वरूप एनबीटी अपचयन की दर कम हो जाती है और अपचयन की यह सीमा नमूने में मौजूद एसओडी की एंजाइम गतिविधि को मापती है। जैविक नमूनों में एसओडी की परख के लिए यह एक सरल और विश्वसनीय तरीका है।

5.8 संदर्भ

1. मार्कलंड एस, मार्कलंड जी। पायरोगैलोल के ऑटॉक्सिडेशन में सुपरऑक्साइड आयन रेडिकल का समावेश और सुपरऑक्साइड डिसम्यूटेज के लिए एक सुविधाजनक परख। यूर जे बायोकेम। 1974 सितंबर 16;47;(3):469–74।

2. कक्कड़ पी, दास बी, विश्वनाथन पीएन। सुपरऑक्साइड डिसम्यूटेज का एक संशोधित स्पेक्ट्रोफोटोमेट्रिक परख। इंडियन जे बायोकेम बायोफिज। 1984 अप्रैल;21(2):130–2

ignou
THE PEOPLE'S
UNIVERSITY

प्रयोग 6

सीरम में विटामिन ई (α–टोकोफिरॉल) का अनुमान लगाना

प्रयोग की रूपरेखा

6.1 प्रस्तावना

अध्ययन के अपेक्षित परिणाम

6.2 सिद्धांत

6.3 आवश्यक सामग्री

6.4 विधि

6.5 प्रेक्षण और परिणाम

6.6 सावधानियां

6.7 सारांश

6.8 संदर्भ

6.1 प्रस्तावना

विटामिन कार्बनिक पोषक तत्व हैं जिनकी आहार में कम मात्रा में आवश्यकता होती है क्योंकि आमतौर पर उन्हें शरीर में संश्लेषित नहीं किया जा सकता है। वे शरीर में विभिन्न उपापचय अभिक्रियाओं को पूरा करने के लिए आवश्यक है। वसा में घुलनशील विटामिनों में से एक, विटामिन ई शरीर में एक महत्वपूर्ण प्रति ऑक्सीकारक के रूप में कार्य करता है। आहार में विटामिन ई यौगिकों के दो परिवारों के मिश्रण के रूप में मौजूद है, अर्थात् (α–, β–,γ और δ) टोकोफेरोल और (α–, β–,γ और δ) टोकोट्रिएनोल। प्रकृति में वसारागी होने के कारण वे लिपोप्रोटीन, कोशिका झिल्ली और वसा संग्रहों में जमा होते हैं, जहां वे मुक्त मूलकों के लिए अपमार्जकों (scavengers; स्कैवेन्जर्स) के रूप में काम करते हैं और इस प्रकार मुख्य रूप से झिल्ली में उपस्थित असंतृप्त वसा अम्लों की परॉक्साइड अभिक्रियाओं से रक्षा करते हैं। इन सभी रूपों में, α–टोकोफिरॉल सबसे सक्रिय है और आमतौर पर विटामिन E सेवन को मिलीग्राम α–टोकोफिरॉल समकक्षों के संदर्भ में परिभाषित किया जाता है। विटामिन E की कमी से तंत्रिका और मांसपेशियों की झिल्ली को नुकसान होता है जिससे तंत्रिकीय और तंत्रिकामांसपेशीय (neuromuscular; न्यूरोमस्कुलर) समस्याएं होती हैं।

अध्ययन के अपेक्षित परिणाम

इस प्रयोग को पढ़ने के बाद आप सक्षम होंगे कि :

- ❖ विटामिन ई के आकलन के पीछे के सिद्धांत को समझ सकेंगे; और
- ❖ दिए गए नमूने में विटामिन ई (α–टोकोफिरॉल) की सांद्रता निर्धारित करने के लिए प्रयोग करें।

6.2 सिद्धांत

α–टोकोफिरॉल का सीरम अनुमान मार्टिनेक, 1964 की विधि पर आधारित है। इस परख में, α–टोकोफिरॉल फेरिक आयनों को फेरस आयनों में अपचयित कर देता है और इस प्रक्रिया में एक मध्यवर्ती बनाने के लिए ऑक्सीकृत हो जाता है, जो लाल रंग का उत्पाद बनाने के लिए तब 2,2–डाइपिरीडाइल अभिकर्मक के साथ अभिक्रिया करता है। उत्पाद का अवशोषणांक 520 nm पर मापा जाता है। सबसे पहले टोकोफेरॉल और कैरोटीन दोनों को जाइलीन परत में निकाला जाता है। कैरोटीन को मापने के लिए अवशोषणांक को 460 nm पर पढ़ा जाता है। यह निकाले गए कैरोटीन से अभिक्रिया में हस्तक्षेप को ठीक करने के लिए किया जाता है। इसके लिए बाद की गणना में सुधार किया जाता है (0.29 × सीरम का 460 nm पर अवशोषणांक)। तत्पश्चात फेरिक क्लोराइड मिलाने के बाद 520 nm पर अवशोषणांक लिया जाता है।

6.3 आवश्यक सामग्री

1. α–टोकोफिरॉल का मानक विलयन (इथेनॉल में 10 मि.ग्रा./लिटर)। इथेनॉल में 10 मिलीग्राम α–टोकोफिरॉल को घोलकर तैयार करें और फिर इथेनॉल के साथ मात्रा को 1000 मिलीलीटर तक बनाएं। यह घोल कमरे के तापमान में स्थिर होता है।

2. α, α–डाइपिरीडाइल अभिकर्मक (0.12% w/v) : α, α–डाइपिरीडाइल के 0.12 ग्राम को 100 मिली एन–प्रोपेनॉल में घोलें और एक भूरे रंग की बोतल में स्टोर करें।

3. फेरिक क्लोराइड (0.12% w/v) : 100 मिलीलीटर निरपेक्ष (absolute; अबस्ल्यूट) इथेनॉल में $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ के 0.12 ग्राम को विलेय करें। एयर टाइट भूरे रंग की बोतल में भर कर रख लीजिये। यह घोल कमरे के तापमान पर स्थिर होता है।

4. जाइलीन

5. निरपेक्ष इथेनॉल, एल्डिहाइड मुक्त

6. एन–प्रोपेनॉल

6.4 विधि

(क) सीरम का संग्रह

सादे अपकेन्द्रित नलियों में रक्त के नमूने लीजिए। सीरम पाने के लिए 15 मिनट के लिए 3000 rpm पर केंद्रापसारक करें। α–टोकोफिरॉल के विश्लेषण के लिए सीरम को सूर्य के प्रकाश से संरक्षित किया जाना चाहिए क्योंकि α–टोकोफिरॉल प्रकाश के संपर्क में आने पर काला हो जाता है और वायुमंडलीय ऑक्सीजन द्वारा धीरे–धीरे ऑक्सीकृत हो जाता है।

(ख) α–टोकोफिरॉल का अनुमान

1. पांच स्टॉपर वाली अपकेन्दिव्र नलियां लें।

2. दो अपकेन्द्रित नलियों में से प्रत्येक में 1.5 मिलीलीटर सीरम, दो अपकेन्द्रित ट्यूबों में प्रत्येक में 1.5 मिलीलीटर मानक और एक ट्यूब में क्रमशः 1.5 मिलीलीटर पानी (रिक्त) डालें।

3. प्रत्येक स्टॉपर ट्यूब, में 1.5 मिली जाइलीन डालें, स्टॉपर लगाएं और अच्छी तरह मिलाएँ।

4. 20 मिनट के लिए 5000 rpm और कमरे के तापमान पर ट्यूब केंद्रापसारी करें।

5. प्रत्येक ट्यूब से 1.0 मिलीलीटर जाइलीन परत (शीर्ष परत) को ठीक से लेबल किए गए स्वच्छ स्टॉपर वाली ट्यूब में स्थानांतरित करें।

6. प्रत्येक स्टॉपर वाली ट्यूब, में 1.0 मिली α, α–डाइपिरीडाइल अभिकर्मक डालें, स्टॉपर लगाएं और अच्छी तरह मिलाएँ।

7. 1.5 मिली मिश्रण को पिपेट द्वारा वर्णमापी क्युवेट् में डालें।

8. वर्णमापी को 460 nm पर रिक्त के साथ शून्य अवशोषणांक पर सेट करें और परीक्षण और मानक ट्यूबों के अवशोषणांक मापें। प्रेक्षण तालिका 6.1 में रीडिंग रिकार्ड करें।

9. फिर रिक्त से शुरू करते हुए प्रत्येक क्युवेट में 0.33 मिली फेरिक क्लोराइड विलयन डालें। अच्छी तरह मिलाएं।

10. रिक्त के साथ तरंग दैर्ध्य को 520 nm पर शून्य अवशोषणांक पर सेट करें। मिश्रण के बाद 1.5 मिनट के भीतर 520 nm पर दोनों परीक्षण और मानक ट्यूबों के अवशोषणांक को मापें। प्रेक्षण तालिका 6.1 में रीडिंग रिकॉर्ड करें।

6.5 प्रेक्षण और परिणाम

प्रेक्षण तालिका 6.1

ट्यूब की क्रम संख्या	**ट्यूब का नाम**	**अभिकर्मक की मात्रा** (ml)	**जाइलीन**		**डाइपिरीडाइल अभिकर्मक** (ml)		**अवशोषणांक 460 nm**	**फैरिक क्लोराइड** (ml)	**अवशोषणांक 520 nm**
	रिक्त	1.5 (आसुत जल)	1.5	5000 rpm पर 20 मिनट के लिए केंद्रापसारी करें और 1 ml ज़ाइलीन परत को स्थानांतरित करें।	1.0	प्रत्येक ट्यूब से 1.5 मि.ली. क्यूवेट में डालें।		0.33	
	मानक I	1.5 (α-टोकोफेरॉल मानक विलयन)	1.5		1.0			0.33	
	मानक II	1.5 (α-टोकोफेरॉल मानक विलयन)	1.5		1.0			0.33	
	सीरम I	1.5 (सीरम नमूना)	1.5		1.0			0.33	
	सीरम II	1.5 (सीरम नमूना)	1.5		1.0			0.33	

गणना

520 nm पर मानक का औसत अवशोषणांक = (A)

520 nm पर सीरम नमूने का औसत अवशोषणांक = (B)

460 nm पर सीरम नमूने का औसत अवशोषणांक = (C)

सीरम टोकोफेरॉल (मिलीग्राम/ली) = -0.29 C

$$\frac{B - 0.29C \times 10}{A}$$

परिणाम

दिए गए सीरम में टोकोफेरॉल की मात्रा .... मिलीग्राम/लीटर है।

6.6 सावधानियां

1. ज़ाइलीन परत को इस तरह से सावधानी से स्थानांतरित किया जाना चाहिए कि इसमें कोई इथेनॉल या प्रोटीन शामिल न हो।

ignou THE PEOPLE'S UNIVERSITY

2. अंतिम रंग समय के साथ फीका पड़ जाता है, इसलिए रीडिंग निर्दिष्ट समय के भीतर ली जानी चाहिए।

3. विटामिन ई के वायुमंडलीय ऑक्सीकरण को रोकने के लिए सीरम के नमूनों को ठीक से संग्रहित किया जाना चाहिए।

6.7 सारांश

विटामीन ई मानव शरीर में मौजूद महत्वपूर्ण प्रतिऑक्सीकारकों में से एक है। यह एक लिपिड परॉक्सीकरण और अन्य मुक्त मूलक–चालित ऑक्सीकारक अभिक्रियाओं को रोकने में अत्यधिक प्रभावी है। इसलिए, रक्त की प्रति ऑक्सीकारी स्थिति का मूल्यांकन करने के लिए इसके सीरम स्तर का अनुमान लगाना महत्वपूर्ण है। सीरम में α–टोकोफेरॉल की सांद्रता को मापने के लिए यह विधि अपेक्षाकृत सरल और किफायती जैव रासायनिक विधि है।

6.8 संदर्भ

1. सीरम में विटामिन ई (कुल टीकोफेरॉल) के निर्धारण के लिए मार्टिनेक आरजी विधि। क्लिन रसायन। 1964 दिसंबर;10:1078–86।

2. जरगर जेजी, हट्टीवाले एसएच, दास एस, धुंडासी एसए, दास केके। सीरम α–टोकोफेरॉल (विटामिन ई) के निर्धारण के लिए एक संशोधित सरल विधि। जे बेसिक क्लीन फिजियोल फार्माकोल। 2012 जनवरी 19;23(1)45–8

3. हेरोल्ड वर्ली एलन एच। गोवेनलॉक। वर्ली की व्यावहारिक नैदानिक जैव रसायन। 6 वां संस्करण। आईएसबीएन 0–433–33806–7। ऑक्सफोर्ड मेडिकल बुक्स पब्लिकेशन, 902–903।

ignou
THE PEOPLE'S
UNIVERSITY

प्रयोग 7

खाद्य नमूने में β–कैरोटीन का अनुमान लगाना

प्रयोग की रूपरेखा

7.1 प्रस्तावना

अध्ययन के अपेक्षित परिणाम

7.2 सिद्धांत

7.3 आवश्यक सामग्री

7.4 विधि

7.5 प्रेक्षण और परिणाम

7.6 सावधानियां

7.7 सारांश

7.8 संदर्भ

7.1 प्रस्तावना

विटामिन ए के सक्रिय रूप रेटिनॉल, रेटिनल और रेटिनोइक अम्ल हैं। उनके पूर्ववर्तियों को पौधों द्वारा संश्लेषित किया जाता है और उन्हें कैरोटीनॉयड के रूप में जाना जाता है। कैरोटीनॉयड में कैरोटीन और संबंधित यौगिक शामिल होते हैं जो विटामिन ए के अग्रदूत के रूप में कार्य करते हैं। β–कैरोटीन सबसे महत्वपूर्ण कैरोटीनॉयड में से एक है। यह आंतों के म्यूकोसा में कैरोटीन डाइऑक्सिनेज द्वारा विदलित किया जाता है जिससे रेटिनाल्डिहाइड उत्पन्न होता है जिसका उपयोग आंखों में दृष्टि चक्र में किया जाता है।

अध्ययन के अपेक्षित परिणाम

इस प्रयोग को पढ़ने के बाद आप सक्षम होंगे कि :

❖ दिए गए नमूने में β–कैरोटीन की मात्रा का अनुमान लगाने के लिए प्रयोग करें।

7.2 सिद्धांत

कैरोटीनॉयड वर्णक को अल्कोहल घुलनशील और पेट्रोलियम ईथर घुलनशील समूहों में अलग किया जा सकता है। यह उन सभी प्रक्रियाओं का आधार रहा है जो कैरोटीन और अन्य कैरोटीनॉयड वर्णकों के आकलन के लिए विकसित की गई है। β–कैरोटीन

एक वसा में घुलनशील वर्णक है और इसलिए इसे पेट्रोलियम ईथर जैसे पानी में अमिश्रणीय विलेयों (solvents; सॉलवैंट्स) में निकाला जा सकता है। इस विधि में इस गुण का उपयोग पेट्रोलियम ईथर के उपयोग द्वारा β–कैरोटीन को अलग करने के लिए किया जाता है। 452 nm पर अवशोषणांक लेकर निष्कर्षित (extracted) β–कैरोटीन की मात्रा का अनुमान लगाया जाता है। निर्जल सोडियम सल्फेट आमापन में पानी को निकालने में मदद करता है जो अन्यथ β–कैरोटीन की मात्रा आमापन में हस्तक्षेप करेगा।

7.3 आवश्यक सामग्री

1. पपीता
2. एसीटोन
3. पेट्रोलियम ईथर
4. निर्जल सोडियम सल्फेट

7.4 विधि

1. 5.0 ग्राम पपीता लें और निर्जल सोडियम सल्फेट के कुछ क्रिस्टल मिलाते हुए 10–15 मिली एसीटोन में मोर्टार और मूसल की मदद से पीस लें।
2. अधोप्लवी को बीकर में स्थानांतरित करें।
3. प्रक्रिया को दो बार दोहराएं और संयुक्त अधोप्लवी को अलग करने वाले फनल (separating funnel) में स्थानांतरित करें।
4. 10–15 मिली पेट्रोलियम ईथर डालें और अच्छी तरह मिलाएँ।
5. इसे कुछ देर तक खड़े रहने दें जब तक कि दोनों परतें अलग न हो जाएं।
6. निचली परत को फेंक दे और ऊपरी परत को 100 मिलीलीटर वॉल्यूमेट्रिक फ्लास्क में इकट्ठा करें।
7. पेट्रोलियम ईथर के साथ मात्रा को 100 मिली करें। अच्छी तरह मिलाएं।
8. स्पेक्ट्रमी प्रकाशमापी को 452 nm पर सेट करें और पेट्रोलियम ईथर को रिक्त के रूप में उपयोग करके शून्य पढ़ने के लिए समायोजित करें।
9. रीडिंग रिकॉर्ड करें।

7.5 प्रेक्षण और परिणाम

लिए गए फल के नमूने (पपीता) का वजन : .... ग्राम

452 nm पर अर्क का अवशोषणांक : ....

$$\beta\text{–कैरोटीन } (\mu g/100 \text{ ग्राम}) = \frac{452 \text{ nm पर अवशोषणांक} \times 13.9 \times 104 \times 100}{\text{फल नमूने का वजन} \times 560 \times 1000}$$

परिणाम

फल के नमूने में .... µg/100 ग्राम β–कैरोटीन है।

7.6 सावधानियां

1. फलों के नमूने को एसीटोन का उपयोग करके अच्छी तरह से कुचल देना चाहिए।

2. बेहतर निष्कर्षण के लिए पेट्रोलियम ईथर को अच्छी तरह मिलाया जाना चाहिए।

7.7 सारांश

β–कैरोटीन एक लाल–नारंगी रंग का वर्णक है जिसमें प्रोविटामिन ए गुण होता है। इसलिए फलों और सब्जियों में इसका आकलन बेहद जरूरी है। यह एक महत्वपूर्ण प्रतिऑक्सीकारक (एंटीऑक्सीडेंट) भी है। वसा में घुलनशील होने के कारण, यह पेट्रोलियम ईथर जैसे विलेयों में घुलनशील है और इस गुण का उपयोग पपीते के नमूने में इसके मात्रात्मक अनुमान के लिए किया जाता है। फलों और सब्जियों में बीटा–कैरोटीन की मात्रा निर्धारित करने की यह एक आसान विधि है।

7.8 संदर्भ

1. डेलिया बी. रोड्रिग्ज–अमाया और किमुरा एम. हार्वेस्ट प्लस हैंडबुक फॉर कैरीटेनॉयड एनालिसिस हार्वेस्ट प्लस टेक्निकल मोनोग्राफ 2, 2004। वाशिंगटन, डीसी और कैलीः इंटरनेशनल फूड पॉलिसी रिसर्च इंस्टीट्यूट (आईएफपीआरआई) और इंटरनेशनल सेंटर फॉर ट्रॉपिकल एग्रीकल्चर (सीआईएटी)।

2. मेहता डी, शर्मा ए. यादव एन, आलम टी और भारद्वाज ए। खुली धूप में सुखाने, और गर्म हवा कैबिनेट सुखाने द्वारा टकसाल (मेंथा अर्वेन्सिस) के निर्जलीकरण पर तुलनात्मक अध्ययन। एशियन जे. डेयरी एंड फूड रेस, 36(2) 2017: 150–155।

ignou THE PEOPLE'S UNIVERSITY