

Волинський національний університет імені Лесі Українки
Факультет хімії, екології та фармації
Кафедра органічної хімії та фармації

Е. М. Кадикало

ХІМІЯ ЛІПІДІВ
МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ
ДО ЛАБОРАТОРНОГО ПРАКТИКУМУ

Луцьк – 2023

Рекомендовано до друку науково-методичною радою
Волинського національного університету імені Лесі Українки

(Протокол № 5 від 18 січня 2023 р.)

Рецензенти:

Піскач Л. В. – кандидат хімічних наук, професор кафедри хімії та технологій Волинського національного університету імені Лесі Українки;

Шемет В. Я. – кандидат хімічних наук, доцент кафедри матеріалознавства Луцького національного технічного університету.

Кадикало Е. М. Хімія ліпідів: методичні рекомендації до лабораторного практикуму. Луцьк: П “Зоря–плюс” ВОО ВОІ СОІУ, 2023. 40 с.

Дані методичні рекомендації призначені для самостійної підготовки до лабораторних занять з хімії ліпідів здобувачів другого (магістерського) рівня вищої освіти спеціальності 102 Хімія. Зміст і структура вказівок базуються на програмі даної навчальної дисципліни.

Вказівки містять методичні розробки лабораторних робіт з навчального курсу «Хімія ліпідів», а також контрольні запитання та вправи до них.

Рекомендовано здобувачам другого (магістерського) рівня вищої освіти спеціальності 102 Хімія, викладачам та лаборантам, які проводять лабораторні заняття.

ЗМІСТ

| | |
|--|-----------|
| ПОЯСНЮВАЛЬНА ЗАПИСКА | 4 |
| РОЗДІЛ 1. ТЕХНІКА ЛАБОРАТОРНИХ РОБІТ | 5 |
| 1.1. Основні вимоги і правила роботи в хімічній лабораторії..... | 5 |
| РОЗДІЛ 2. МЕТОДИЧНІ РОЗРОБКИ ЛАБОРАТОРНИХ РОБІТ | 17 |
| 2.1. Лабораторна робота № 1. Фізико-хімічні властивості ліпідів. Вивчення властивостей нейтральних жирів і фосфоліпідів..... | 17 |
| 2.2. Лабораторна робота № 2. Виділення олії з рослинної сировини (насіння, плодів) методом екстракції органічними розчинниками..... | 24 |
| 2.3. Лабораторна робота № 3. Розділення ліпідної фракції методом тонкошарової хроматографії в тонкому шарі адсорбенту..... | 26 |
| 2.4. Лабораторна робота № 4. Визначення фізичних характеристик ліпідів: показника кута заломлення, густини олії, температури плавлення жирів та визначення кількісного вмісту речовин, які не омилуються | 31 |
| 2.5. Лабораторна робота № 5. Визначення хімічних показників ліпідів. Визначення кислотного, естерного, пероксидного та йодного чисел і числа омилення жирів..... | 36 |
| РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА..... | 41 |

ПОЯСНЮВАЛЬНА ЗАПИСКА

За своїм змістом пропонований курс передбачає вивчення однієї з основних груп органічних речовин, які входять до складу всіх структурних одиниць живих організмів та рослин – ліпідів. Знання хімії ліпідів передбачає не лише вивчення будови, структури та основних властивостей окремих груп ліпідів, але й розуміння їх впливу на процеси проникності й метаболізму.

Метою даного курсу є формування у здобувачів освіти цілісного уявлення про організацію структури ліпідів та ліпоподібних речовин, їх якісного та кількісного складу; розуміння участі ліпідів у процесах обміну речовин та енергії, а також в утворенні великої групи біологічно активних речовин, які впливають на функціональну діяльність організму.

Вивчення освітнього компоненту «Хімія ліпідів» передбачає вирішення наступних навчальних завдань:

- ознайомлення з методами виділення ліпідів з природної сировини та методами їх якісного та кількісного визначення; вивчення шляхів біосинтезу ліпідів та динаміки утворення на їх основі біологічно активних речовин;
- вдосконалення навиків здобувачів освіти виконувати певні хімічні операції з дотриманням правил техніки безпеки.

На основі теоретичних знань у здобувачів освіти будуть сформовані уміння:

- технічно та методично грамотно проводити виділення та визначення ліпідів та ліпоподібних речовин за відомими методиками з використанням прийнятих методів дослідження;
- здійснювати ідентифікацію ліпідів та ліпоподібних сполук за результатами проведених аналізів.

Лабораторні роботи повинні виконуватися після вивчення відповідної теми, що сприяє кращому засвоєнню теоретичного матеріалу і надає можливість студентам отримати практичні навички в постановці навчально-дослідних експериментів на основі оволодіння основними прийомами техніки лабораторних робіт.

Виконання лабораторних робіт з курсу «Хімія ліпідів» дає можливість ознайомитися способами виділення природних ліпідів, навчитися експериментально визначати певні фізичні характеристики та хімічні показники ліпідів.

Для самостійної підготовки студентів передбачені теоретичні відомості на початку кожної лабораторної роботи та питання для самоперевірки знань.

РОЗДІЛ 1. ТЕХНІКА ЛАБОРАТОРНИХ РОБІТ

1.1. ОСНОВНІ ВИМОГИ І ПРАВИЛА РОБОТИ В ХІМІЧНІЙ ЛАБОРАТОРІЇ

Загальні правила роботи в хімічній лабораторії

1. В хімічній лабораторії потрібно працювати в халаті.
2. Забороняється приносити в лабораторію верхній одяг, залишати сумки в проходах.
3. В лабораторії забороняється бігати, голосно розмовляти, їсти, палити.
4. Кожен студент повинен працювати тільки на закріпленому за ним робочому місці.
5. Робоче місце потрібно утримувати в чистоті і порядку, не загромождувати його предметами, які не стосуються даної роботи.
6. Категорично забороняється працювати в лабораторії самотійно у відсутності лаборанта чи викладача.
7. Починати виконання лабораторної роботи можна лише з дозволу викладача.
8. При виконанні будь-якої роботи потрібно дотримуватись обережності, пам'ятаючи, що неакуратність, неуважність, недостатнє знайомство з приладами і властивостями речовин може бути причиною нещасних випадків.
9. Хімічні реакції слід проводити у строгій відповідності до методичних рекомендацій. Категорично забороняється будь-яке відхилення від умов виконання дослідів, що описані в методичній розробці.
10. Під час роботи слід зберігати тишу, порядок і дотримуватись правил безпеки; забороняється займатися сторонніми справами.
11. Після закінчення роботи необхідно прибрати робоче місце, вимкнути електроприлади, перекрити газ і воду, здати робоче місце лаборантові (черговому студентіві).

Правила безпеки під час роботи в хімічній лабораторії

Загальні вимоги

1. Хімічні досліді необхідно проводити в тих умовах і порядку, з такими кількостями й концентраціями речовин і приладами, які зазначені в інструкції до проведення експерименту.
2. Хімічні реактиви для дослідів видає лаборант у кількостях, необхідних для даного експерименту.
3. Доступ студентів до місця зберігання хімічних реактивів повинен бути виключений.
4. Під час проведення дослідів залишати робоче місце не дозволяється.

5. Працювати з високотоксичними речовинами (хлорангідриди кислот, бром, хлор, оксид карбону, галогенопохідні фосфору, синильна кислота та ін.), а також проводити досліди, які супроводжуються виділенням шкідливих газів і пари, треба лише у витяжній шафі зі справною діючою вентиляцією.

6. Категорично забороняється користуватись речовинами з посуду, що не має етикеток.

7. Визначаючи речовину за запахом, необхідно легким рухом долоні над горлом посудини спрямувати пару або газ до носа і вдихати обережно, не нахиляючись до посудини.

8. Не дозволяється брати реактиви незахищеними руками. Для цього слід використовувати ложки, шпателі або совочки.

9. Насипати або наливати реактиви необхідно на столі: сухі – над аркушем паперу, рідкі – над скляною посудиною. Розсипаний або розлитий реактив не дозволяється зсипати або зливати назад у основну тару.

10. Закріплювати хімічний посуд (колби, стакани тощо) у тримачах штатива слід обережно, обертаючи його навколо осі, поки не відчується невелике утруднення в обертанні.

11. Нагрівати хімічні реактиви для дослідів необхідно тільки у тонкостінному скляному або фарфоровому посуді. Під час нагрівання рідин не можна заглядати згори в посудину для запобігання травм внаслідок розбризкування нагрітої речовини. Всі досліди, пов'язані з застосуванням або використанням отруйних речовин, а також отруйних парів і газів, дозволяється проводити тільки у витяжній шафі, дверцята повинні бути опущені на 1/3. У випадку зупинки вентилятора досліди у витяжній шафі повинні бути негайно припинені. При нагріванні і кип'ятінні розчинів в пробірці необхідно користуватись тримачами і слідкувати за тим, щоб отвір пробірки не був звернений в бік інших студентів.

12. Не можна нагрівати закоркованими ніякі посудини чи апарати, крім спеціально для цього призначених.

13. Нагрівання летких та горючих рідин (ефір, петролейний ефір, бензин, ацетон, бензен, спирт та ін.) слід проводити тільки на водяній бані, а не на відкритому полум'ї. Категорично забороняється ставити склянки з горючими та легкозаймистими рідинами поблизу відкритого полум'я.

14. Категорично забороняється виливати в раковину залишки концентрованих кислот, лугів, вогнебезпечні рідини та речовини з різким неприємним запахом, кидати в раковину папір, вату, сірники, осади та інші тверді речовини. Для цього потрібно використовувати спеціально призначені склянки.

15. Заборонено пробувати речовини на смак.

16. Заборонено проводити досліди в брудному посуді. Не дозволяється залишати речовини у посуді без етикеток або підписів. Заборонено використовувати реактиви з банок, які не мають етикеток. При невпевненості в підписі на етикетці слід звернутися до лаборанта або викладача.

17. При запалюванні пальника спочатку потрібно обмежити до мінімуму доступ повітря, потім запалити сірник, відкрити газовий кран і піднести сірник збоку до отвору пальника; поступово збільшуючи надходження повітря, одержати окисне полум'я (яке має блакитний колір); відрегулювати висоту полум'я до необхідної шляхом обмеження або збільшення подачі газу. При цьому потрібно враховувати, що значний надлишок повітря при запалюванні пальника і під час користування ним може привести до відриву полум'я від пальника.

Правила безпечної роботи з кислотами і лугами

1. Концентровані кислоти, а також аміак необхідно обережно наливати під витяжкою, щоб запобігти травмам.

2. Переносити або навіть підіймати склянки з агресивними реактивами за шийку посудини не дозволяється.

3. Для одержання розчинів із концентрованих кислот необхідно лити **кислоту у воду**, а не навпаки, постійно перемішуючи. Розчинення концентрованої кислоти у воді (особливо сульфатної) супроводжується сильним нагріванням і розбризуванням рідини, що може призвести до опіків.

4. Для розбавлення концентрованих кислот, їх змішування, а також для змішування речовин, яке супроводжується виділенням теплоти, потрібно користуватися хімічним тонкостінним скляним або фарфоровим посудом.

5. Щоб уникнути опіків порожнини рота, а також отруєння, забороняється набирати розчини кислот, лугів та інших агресивних рідин у піпетку ротом. Для засмокування цих речовин потрібно користуватися піпетками з різними пастками та гумовою грушею.

6. Розчиняти луги слід у фарфоровому посуді, повільно додаючи до води невеликі порції лугу при безперервному перемішуванні. Шматочки лугу можна брати тільки пінцетом або щипцями.

7. Під час проведення всіх операцій з кислотами і лугами треба обов'язково застосовувати засоби індивідуального захисту: халат та гумовий фартух, гумові рукавиці, захисні окуляри тощо.

8. Відпрацьовані кислоти і луги слід збирати в спеціально призначений посуд окремо і зливати в каналізацію тільки після нейтралізації.

9. Розлиті кислоти або луги необхідно негайно засипати піском, нейтралізувати і після цього прибрати.

Правила безпечної роботи з металічним натрієм

1. Лужний метал натрій енергійно взаємодіє з водою, при цьому виділення водню може супроводжуватися вибухом. Тому під час роботи з металічним натрієм потрібно бути особливо обережним.

2. Не можна допускати, щоб натрій мав контакт з водою, вологими предметами, органічними сполуками, які містять хлор, твердим карбону (IV) оксидом (сухим льодом).

3. Усі роботи з металічним натрієм треба виконувати на піддонах у витяжній шафі, використовуючи захисні окуляри і гумові рукавиці, якомога далі від джерел води і тепла.

4. Не дозволяється працювати з натрієм за вологості в приміщенні, яка перевищує 60 %.

5. Зберігати металічний натрій необхідно в скляній тарі, яка щільно закрита корком, під шаром зневодненого гасу, парафіну або трансформаторного мастила. Банки зберігаються в металевому ящику з піском.

6. Виймати металічний натрій з тари, завантажувати його в апарати тощо треба лише сухим пінцетом або тигельними щипцями. Гас, парафін та трансформаторне мастило з поверхні металу витирають фільтрувальним папером.

7. Різати металічний натрій потрібно на фільтрувальному папері сухим і гострим ножем. Первинне різання натрію треба виконувати під шаром трансформаторного мастила або гасу для зняття верхнього пероксидного шару, оскільки внаслідок контакту пероксидних сполук із чистим металом на відкритому повітрі може статися вибух.

8. Відходи (обрізки) металічного натрію необхідно збирати в окремі банки зі зневодненим гасом для наступного знищення в той самий день. Нагромаджувати залишки натрію не дозволяється.

9. Викидати залишки металічного натрію в каналізаційну раковину або тару для збирання сміття не дозволяється.

10. Прилади і посуд, в яких можлива наявність частинок металічного натрію, треба спочатку промити етиловим спиртом і тільки після цього, коли увесь метал розчиниться в ньому, можна промивати водою.

11. Для гасіння металічного натрію, який загорівся, треба користуватися порошковим вогнегасником, сухим піском, сухою магnezією або ковдрою. Не дозволяється застосовувати для гасіння лужних металів воду, пінні вогнегасники та карбону (IV) оксид (вуглекислоту).

Правила безпечної роботи з металічною ртуттю

1. Робота з металічною ртуттю проводиться лише у витяжній шафі з включеною вентиляцією. Прилад та посудини для роботи розміщуються на металевому емальованому піддоні.

2. Ртуть зберігається у тефлонових або скляних банках під шаром води.

3. Ртутні термометри для вимірювання температури не можна застосовувати для перемішування реакційної суміші.

4. Для вимірювання температури бані термометр необхідно закріпити на штативі за допомогою лапки.

5. Для вимірювання температури реакційної суміші термометр має бути належним чином закріплений в колбі.

6. Кожен термометр має робочий діапазон температур. Не дозволяється нагрівати реакційну суміш до температури, яка є вищою за максимальне значення температури для даного термометра.

7. Термометр при збиранні приладу вставляється останнім, а при розбиранні виймається першим.

8. Не можна класти термометр близько до краю стола або витяжної шафи.

9. Якщо у приладі з термометром має ще працювати механічна мішалка, то остання не має торкатися термометра у процесі перемішування.

10. Категорично забороняється викидати залишки розбитого термометра у раковину або в корзину для сміття.

11. Для запобігання отруєння парами ртуті розбитого термометра необхідно вжити наступних заходів:

а) якщо термометр розбився у колбі, то рештки термометра акуратно вийняти з колби (у витяжній шафі) і покласти у великий хімічний стакан з водою. Залишки ртуті з колби також злити у цей стакан. Все це віддати лаборантові.

б) якщо термометр розбився на столі або на підлозі, необхідно попередити студентів, які працюють поруч і не ходити по тому місці. Видимі краплі ртуті слід зібрати на листочок паперу згорнутий човником і злити у склянку з водою. Дрібні частинки ртуті збираються за допомогою щітки з тоненького мідного дроту попередньо змоченої у концентрованій нітратній кислоті. Після цього місце де була розлита ртуть обробляється 10 % розчином феруму (III) хлориду і залишається на добу. Через добу змивається гарячою водою.

Правила безпечної роботи з органічними розчинниками

На заняттях в хімічній лабораторії використовуються органічні розчинники, які мають значну токсичність і утворюють з повітрям

вибухонебезпечні суміші: ацетон, бензин, бензен, етиловий, бутиловий і метиловий спирти тощо.

За ступенем небезпечності розчинники, які застосовуються в хімічній лабораторії, належать до трьох груп:

- розчинники, які зумовлюють здебільшого гострі отруєння з переважаючим явищем наркозу, – бензин, етиловий і бутиловий спирти, ацетон;
- розчинники більш токсичні, які спричиняють гострі отруєння, – метиловий спирт (метанол) тощо;
- розчинники, які мають високу токсичність, крім гострих отруєнь спричиняють стійкі зміни функції кровоносних органів і нервової системи, – бензен тощо.

За ступенем пожежної безпеки більшість із них належить до легкозаймистих та вибухонебезпечних (етери, естери, спирти, ацетон, бензен, хлороформ, чотирихлористий вуглець, тетрагідрофуран тощо).

1. Під час роботи з органічними розчинниками потрібно бути особливо обережним, роботу виконувати у витяжній шафі.

2. Прилад, у якому демонструють дослід, пов'язаний з небезпекою вибуху, з боку працюючого повинен бути захищений екраном із органічного скла. Експериментатор захищає очі окулярами або маскою з козирком із оргскла.

3. Перед початком роботи з легкозаймистими розчинниками всі пальники, які є у витяжній шафі, де виконується дослід, треба загасити, а електричні нагрівники – вимкнути.

4. Роботу, пов'язану з небезпекою загоряння, спалаху або вибуху, треба виконувати стоячи.

5. Нагрівання і перегонку легкозаймистих і горючих органічних розчинників дозволяється виконувати лише на водяній або паровій бані, використовуючи електронагрівачі. Ці речовини забороняється нагрівати у відкритих колбах на газовому пальнику та відкритих електроплитках; переганяти їх досуха.

6. Не дозволяється виливати в каналізацію органічні розчинники. Відпрацьовані рідини потрібно збирати у призначену тару, що герметично закривається, і знищувати в місцях, погоджених із органами санітарного та пожежного нагляду.

7. Якщо в лабораторії розлито невелику кількість органічного розчинника (до 0,05 л), треба загасити відкрите полум'я у всьому приміщенні і провітрити його.

Правила електробезпеки

Поводження з електроприладами в хімічній лабораторії потребує великої обережності й безумовного виконання правил електробезпеки.

У хімічній лабораторії потрібно використовувати електронагрівачі закритого типу та інше електричне обладнання тільки заводського виготовлення. При експлуатації слід користуватися паспортом та інструкцією заводу-виробника.

Правила користування витяжною шафою

1. Витяжну шафу вмикають не пізніше, ніж за 15 хв. до початку роботи.

2. Стулки витяжної шафи під час роботи мають бути максимально закритими з невеликим зазором для тяги. Відкривати їх дозволяється тільки на час використання встановлених у шафі приладів або в разі іншої потреби на висоту, зручну для роботи, але не більше, як половина висоти отвору.

3. Підняті стулки під час роботи у витяжній шафі закріплюють за допомогою наявних для цього пристроїв.

4. Якщо витяжна шафа має кілька стулок, то ті, якими не користуються, повинні бути закритими. У випадку недотримання цього правила знижується ефективність вентиляції.

5. Щоб запобігти проникненню шкідливих газів і пари з витяжної шафи до приміщення лабораторії, вентиляцію треба відрегулювати так, щоб у шафі утворювалося невелике розрідження.

Правила роботи зі скляним лабораторним посудом

1. Під час роботи на установці, виготовленій зі скла або з елементами зі скла, в умовах, коли є хоч невелика ймовірність аварії, необхідно обгородити всю установку захисним екраном із оргскла, а найнебезпечніші ділянки установки – металевою сіткою або металевим кожухом.

2. Під час монтажу скляних приладів застосовувати надмірні зусилля не дозволяється. При з'єднанні окремих частин зі скла необхідно захищати руки тканиною.

3. Щоб полегшити складання приладів, кінці скляних трубочок змочують водою, вазеліном або гліцерином.

4. Усі види механічної і термічної обробки скла потрібно виконувати з використанням захисних окулярів.

5. Щоб обрізати скляну трубку або паличку, необхідно зробити на ній надріз напилком або іншим інструментом, який ріже скло, після чого взяти трубку обома руками і легким натиском у напрямі, протилежному надрізу, зламати її.

Після розлому гострі кінці слід оплавити або обробити шліфшкіркою.

Якщо хімічні реактиви знаходяться в ампулах, то для їх відкриття необхідно обережно зробити надріз, як у випадку зі скляною паличкою, відламати шийку ампули, тримаючи ампулу над лотком або іншою посудиною. Потім обережно пересипати або перелити вміст ампули у заздалегідь заготовлену склянку (наприклад, бром чи іод необхідно тримати в посудині, виготовленій із темного скла).

6. Кінці скляних трубок і паличок, які застосовують для розмішування розчинів та з іншою метою, мають бути оплавлені.

7. Для змішування або розбавлення речовин, які супроводжуються виділенням теплоти, а також для нагрівання хімічних речовин слід використовувати фарфоровий або тонкостінний скляний посуд.

8. Пробірки, круглодонні колби, фарфорові чашки можна нагрівати на відкритому вогні, плоскодонні колби і склянки слід нагрівати тільки на металевому розсікачі полум'я.

9. Посудину з гарячою рідиною не можна закривати притертим корком доти, поки вона не охолоне.

10. Щоб відкрити корок, який заклинив, необхідно спочатку обережно постукати по обводу пробки знизу догори дерев'яним молоточком або брусом. Якщо це не допомагає, потрібно обережно підігріти шийку посудини так, щоб не нагрілась вся посудина. Нагрівати можна рушником, змоченим гарячою водою, обгорнувши ним шийку посудини або над полум'ям спиртового пальника, обертаючи посудину навколо осі, не торкаючи її до полум'я. Не можна нагрівати посудину над відкритим полум'ям, якщо в посудині містяться легкозаймисті, вибухонебезпечні або отруйні речовини.

11. Великі хімічні склянки слід піднімати обома руками так, щоб відігнуті краї (бортики) спиралися на вказівний та великий пальці.

12. Установку або окремі частини її, які перебувають під вакуумом, слід захищати дротяним екраном (сіткою); під час роботи з ними користуватися захисними окулярами.

13. Скляні посудини, призначені для роботи під вакуумом, заздалегідь випробовують на максимальне розрідження. Перед випробуванням посудину потрібно обгорнути рушником або натягнути на неї металеву сітку. Такі самі заходи безпеки застосовують під час проведення фільтрування під розрідженням. Застосовувати плоскодонний посуд (перегонну колбу, приймач) у вакуумних установках і приладах не дозволяється.

14. Тонкостінну посудину під час закривання гумовим корком (наприклад, при виготовленні промивалки) тримають за верхню частину шийки, корок злегка повертають, руки при цьому захищають рушником.

15. Роботу з отруйними, вогне- і вибухонебезпечними речовинами, а

також роботи, які проводяться під тиском або вакуумом, слід виконувати в приладах і посуді з високоякісного, термостійкого скла.

16. Нагріваючи рідину в пробірці або колбі, необхідно закріплювати їх так, щоб отвір пробірки або шийка колби були спрямовані в напрямі від себе і сусідів по роботі; при цьому посуд наповнюють рідиною не більше, ніж на третину об'єму. Протягом усього процесу нагрівання не дозволяється нахилитися над посудиною і заглядати в неї.

17. При нагріванні хімічних речовин у пробірці або колбі не дозволяється тримати їх руками, треба закріплювати в тримачі для пробірок або в лапці штатива (затискач повинен бути біля отвору пробірки).

18. Під час миття скляного посуду треба пам'ятати, що скло крихке, легко ламається і тріскається від ударів, різкої зміни температури. Для миття посуду щітками ("йоржками") дозволяється спрямовувати дно посудини тільки від себе або донизу.

Надання першої (долікарської) медичної допомоги потерпілим

Під час проведення лабораторних занять в хімічній лабораторії можливі нещасні випадки (отруєння, хімічні й термічні опіки, травмування осколками скла тощо). Слід пам'ятати, що чим швидше буде надано допомогу потерпілому, тим менше буде негативних наслідків. Кожен працюючий повинен знати, де в лабораторії знаходиться аптечка з медикаментами, уміти надати першу допомогу при різних травмах. У випадку необхідності потрібно негайно викликати швидку допомогу.

Перша допомога у випадку отруєнь

1. Отруєння карбону (II) оксидом

Ознаки отруєння: запаморочення, головний біль, слабкість, блювання, шум у вухах, судоми і втрата свідомості.

Перша допомога: негайно вивести потерпілого на свіже повітря, звільнити від одягу, який заважає диханню, давати вдихати кисень (чистий або з добавкою вуглекислоти (CO₂) з масовою часткою 5 %) Потерпілого потрібно тримати в теплі, зігрівати грілками або теплими компресами до рук і ніг. При потребі – робити штучне дихання до прибуття лікаря.

2. Отруєння сірководнем

Ознаки отруєння: запаморочення, головний біль, нудота, загальна слабкість У деяких випадках може настати раптова смерть внаслідок ураження дихальних шляхів.

Перша допомога треба забезпечити потерпілому доступ свіжого повітря, дати вдихати кисень з добавкою вуглекислоти з масовою часткою 5–7 %.

3. Отруєння оксидами Нітрогену

Ознаки отруєння: оксиди Нітрогену насамперед діють на слизову оболонку і дихальні шляхи, потім зумовлюють подразнення очей, сухість у горлі, кашель, іноді нудоту і блювання. Отруєння оксидами Нітрогену особливо небезпечне для осіб, які страждають захворюваннями серця.

Перша допомога: потерпілому дати дихати чистим киснем. У зв'язку з можливим набряканням легень і порушенням кровообігу слід уникати всяких зусиль, потрібен повний спокій. Не допускати охолодження тіла.

4. Отруєння хлором

Ознаки отруєння: подразнення верхніх дихальних шляхів, за тривалої дії кашель посилюється і може завершитися спазмом окремих ділянок дихальних шляхів, може зупинитись дихання. Навіть за короткочасної дії хлору треба остерігатися гострого набрякання легень.

Перша допомога: негайно вивести потерпілого на свіже повітря, звільнити від одягу, що заважає диханню. Дати дихати киснем або вдихати з ватки нашатирний спирт з етанолом, можна дати випити суспензію магнію оксиду (10 г на склянку води). Покласти до рук і ніг потерпілого теплі компреси.

5. Отруєння сірчистим газом

Ознаки отруєння: подразнення слизових оболонок, кашель і чхання.

Перша допомога: потерпілого вивести на свіже повітря, вдихати нашатирний спирт з етанолом, застосувати інгаляцію розчином питної соди з масовою часткою натрію гідрогенкарбонату 2 %.

6. Отруєння амоніаком

Ознаки отруєння: подразнення слизових оболонок, сльозотеча і запалення очей, сильний кашель, жар у горлі. Крім того, у потерпілого з'являються нудота і приступи задухи.

Перша допомога: при отруєнні через вживання рідини з амоніаком дати випити велику кількість води з добавлянням до неї оцтової кислоти, викликати блювання, дати молока, яєчний білок, при отруєнні внаслідок вдихання амоніаку вивести потерпілого на свіже повітря, вдихати пари розведеної оцтової кислоти.

7. Отруєння органічними рідинами

У разі потрапляння в організм через рот отруйних органічних рідин: ацетон, формалін, метанол, анілін тощо – необхідно викликати блювання, а потім дати молока і яєчний білок.

При отруєннях в інших випадках необхідно:

при отруєнні сірководнем – потерпілого вивести на свіже повітря, давати вдихати нашатирний спирт, дати валідол, напоїти міцним солодким чаєм;

при отруєнні натрію фторидом – створити потерпілому повний спокій, поїти молоком з яєчним білком або дати вапняну воду;

при отруєнні сульфатною кислотою – дати проковтнути шматочок льоду і покласти лід на живіт, прополоскати рот розчином калію перманганату з масовою часткою 2 %, пити молоко, яєчний білок, розчин крохмалю.

Перша допомога при опіках

Під час роботи в хімічній лабораторії найбільш імовірними є термічні і хімічні опіки.

1. При термічних опіках першого ступеня уражене місце обробляють етиловим спиртом, після чого накладають суху стерильну пов'язку або чисту тканину і звертаються до дерматолога. Ні в якому разі не можна проколувати пухир, змочувати місця опіків водою припікати їх розчином калій перманганату, брильянтової зелені, розчином йоду, застосовувати “народні засоби”, різні олії, вазелін, бо вони тільки підсилюють опіки, сповільнюють загоєння ран. При важких опіках необхідно негайно відправити потерпілого до лікувального закладу.

2. У випадку хімічних опіків уражену ділянку шкіри треба промити великою кількістю прохолодної води протягом 15–20 хв. (забороняється обробляти обпечені місця ватним тампоном), потім промивають розчином питної соди з масовою часткою натрію гідрогенкарбонату 2 % (при потрапленні кислоти) або розчином оцтової чи лимонної кислоти з масовими частками 1–2 % (при потрапленні лугу) промивають водою і накладають марлеву пов'язку з риванолом або фурациліном.

При опіках під час роботи з металічним натрієм, а також фосфором необхідно ватним тампоном зняти з поверхні шкіри ці речовини, а потім промити великою кількістю води.

При опіках фенолом уражене місце від країв до центру обробляють етиловим спиртом.

При опіках бромом слід швидко змити бром за допомогою етанолу. Після цього ушкоджене місце змазують маззю від опіків. У випадку вдихання парів бромоводню слід змочити вату етиловим спиртом і глибоко вдихати пари спирту, а потім випити молоко і вийти на свіже повітря.

Перша допомога при опіках очей

1. При потрапленні в око будь-якої хімічної речовини необхідно ретельно промити його великою кількістю води.

2. Опіки очей під час роботи в хімічній лабораторії найчастіше спричиняються кислотами і лугами. При опіках кислотою безпосередньо після опіку видно ділянку і важкість ураження. Спостерігається почервоніння, у важких випадках – омертвіння тканини і в подальшому – відторгнення омертвілої тканини.

3. При опіках лугом не завжди видно відразу важкість ураження. Спостерігається почервоніння кон'юнктиви, помутніння рогівки, хворі не завжди звертаються до лікаря. Проте через 1–2 дні стан погіршується, рогівка мутніє, і людина може втратити зір. Усе це трапляється внаслідок того, що при опіках кислота безпосередньо пошкоджує тканини, до яких дотикається, а луг просочується між клітинами і спричиняє руйнівну дію на саму тканину.

4. При потраплянні в око кислоти найкраще відразу промити його чистою проточною водою, а потім накласти ватний тампон, змочений розчином натрій гідрогенкарбонату з масовою часткою 3 %.

5. Промивати очі при потраплянні лугу слід водою, а після цього – розчином боратної кислоти з масовою часткою 2 % (1 чайна ложка боратної кислоти на склянку води). Після заключного промивання очей чистою водою під повіки вводять 2–3 краплі альбуциду з масовою часткою розчиненої речовини 30 %.

6. Промивати очі після опіку необхідно ретельно протягом 20–30 хв., а потім обов'язково звернутися до лікаря.

Перша допомога при пораненні

Той, хто подає допомогу при пораненні, повинен з милом помити руки, а якщо це неможливо – змазати пальці йодною настоянкою. Торкатися рани навіть вимитими руками не дозволяється. Не дозволяється обмивати рану водою.

При незначних порізах рану обробляють йодною настоянкою і накладають марлеву пов'язку, яка захищає організм від мікробів і сприяє швидкому зсіданню крові.

При пораненні склом або іншим предметом рану промивають великою кількістю дистильованої води або тампоном, змоченим етиловим спиртом; виймають осколки скла і знову промивають рану спиртом. Якщо рана забруднена, бруд видаляється лише навкруги, але ні в якому разі не з глибинних шарів рани. Шкіру навколо рани обробляють йодною настоянкою або розчином брильянтової зелені, перев'язують і звертаються до медпункту.

При серйозному порізі й сильній кровотечі необхідно накласти джгут вище рани, покрити рану стерильною марлею і негайно викликати лікаря.

РОЗДІЛ 2

МЕТОДИЧНІ РОЗРОБКИ ЛАБОРАТОРНИХ РОБІТ

2.1. Лабораторна робота № 1

ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ЛІПІДІВ. ВИВЧЕННЯ ВЛАСТИВОСТЕЙ НЕЙТРАЛЬНИХ ЖИРІВ І ФОСФОЛІПІДІВ

Мета: дослідити фізичні та хімічні властивості ліпідів, оволодіти методами одержання нейтральних жирів і методиками вивчення їх фізико-хімічних властивостей. Дослідити реакції якісного визначення холестеролу. Виділити лецитин з яєчного жовтка та дослідити його склад і властивості.

Короткі теоретичні відомості

Ліпіди – це біологічно важливі органічні сполуки рослинного або тваринного походження різноманітної хімічної структури, нерозчинні у воді і розчинні в малополярних органічних розчинниках (ефірі, спирту, хлороформі, ацетоні та ін.). Ліпіди поділяють на прості і складні: прості ліпіди – це сполуки, у молекулі яких містяться залишки тільки жирних кислот і спиртів; у молекулах складних ліпідів є ще й залишки фосфатної кислоти, моно- або олігосахаридів, нітрогеновмісних сполук та ін.

У живих організмах ліпіди виконують функцію структурних компонентів клітинних мембран. Вони є формою, в якій депонуються запаси метаболічного «палива» і здійснюється його транспорт; виконують захисну роль, обволікаючи органи, судини, нерви і запобігаючи їх механічним ушкодженням. Саме неполярність, гідрофобність ліпідів дозволяє біологічним мембранам виконувати їх функції.

Ліпіди або їх похідні можуть виконувати функції біологічно активних речовин, таких як гормони, вітаміни, простагландини. Оскільки ліпіди поряд з білками відіграють важливу роль у структурній організації клітинних мембран, з ними пов'язано багато ефектів лікарської терапії.

Фосфоліпіди – це група ліпідів, що містять фосфат та (найчастіше) азотисті основи. Фосфоліпіди можна розділити на дві групи: гліцерофосфоліпіди та сфінгофосфоліпіди. Фосфоліпіди крові входять до складу ліпопротеїнів, обумовлюючи нарівні з білками полярні властивості цих комплексів і їх розчинність.

Експериментальна частина

А. Одержання та фізико-хімічні властивості нейтральних жирів

Дослід А.1.1. Утворення масляної плями

Краплю масла наносять скляною паличкою на шматок паперу. Утворюється пляма, яка не зникає при нагріванні.

Дослід А.1.2. Розчинність ліпідів

Характерною властивістю жирів є їх гарна розчинність в багатьох органічних розчинниках (ацетон, хлороформ, діетиловий етер та інші) та нерозчинність у воді.

Беруть три серії пробірок по чотири в кожній. У першу серію пробірок (№ 1-4) поміщають маленький шматочок, приблизно з горошину, твердого тваринного жиру (наприклад, яловичого), у другу серію пробірок (№ 5-8) наливають декілька крапель рослинної олії, у третю (№ 9-13) – декілька крапель риб'ячого жиру. Потім у першу пробірку кожної серії наливають 3 мл дистильованої води, у другу – 3 мл діетилового етеру, у третю – 3 мл хлороформу, у четверту – 3 мл спирту. Вміст всіх пробірок енергійно струшують і відзначають зміни, які відбулися в кожній пробірці. Якщо в якій-небудь пробірці розчинення не відбувається, її обережно підігривають на водяній бані.

Результати дослідів записують у таблицю.

| № | Жири | Розчинник | | | |
|---|---------------|-----------|-----------------|-----------|----------------|
| | | Вода | Діетиловий етер | Хлороформ | Етиловий спирт |
| 1 | Тваринний жир | | | | |
| 2 | Риб'ячий жир | | | | |
| 3 | Олія | | | | |

Дослід А.1.3. Емульгування жирів

При змішуванні жирів з водою утворюються емульсії, стійкість яких залежить від середовища, в якому вони утворюються. *Емульгуванням* називають розподіл однієї нерозчинної рідини в іншій у вигляді краплин. Таке подрібнення на краплини звичайно відбувається при енергійному перемішуванні двох рідин. Щоб емульсія не розшарувувалася, використовують спеціальні речовини – емульгатори або стабілізатори (мила, жовчні кислоти, карбонати). Утворення емульсії обумовлено тим, що у поверхневій водній шар, який оточує жирові краплини, надходять поверхнево-активні частки жовчних кислот, мила, карбонатів, які обволікають краплинки жиру та запобігають їх злиттю.

Стійкість одержаної емульсії значною мірою залежить від природи емульгатора. Основними емульгаторами є солі жовчних кислот, білки, фосфатиди, мила, гідрокарбонати лужних металів.

У чотири пробірки наливають по 5 мл дистильованої води. До другої пробірки вносять на кінчику ножа лецитин, до третьої – 1 мл 1 % розчину Na_2CO_3 , до четвертої – 1 мл 1 % розчину NaHCO_3 . Потім до всіх пробірок додають по 0,2 мл олії. Пробірки енергійно струшують і залишають на 5 хвилин. У першій пробірці емульсія швидко розшаровується на воду і олію. У інших пробірках завдяки наявності лецитину і соди утворюються стійкі емульсії.

Вміст пробірок фільтрують через паперові фільтри в інші пробірки. У першій пробірці через фільтр проходить прозорий розчин, а олія залишається на фільтрі. В інших пробірках фільтрується каламутна рідина (емульсія). Отже, стабілізатори сприяють емульгуванню жирів і значно полегшують їх проходження через мембрани.

Дослід А.1.4. Виявлення ненасиченості ліпідів

В три пробірки вносять 1 мл розчину рослинної олії в хлороформі, 1 мл вершкового масла в хлороформі, 1 мл маргарину в хлороформі. Отримані розчини титрують 0,001 н розчином йоду в хлороформі до появи рожевого забарвлення. Порівнюють кількості розчину йоду, необхідних для насичення різних жирів.

Дослід А.1.5. Омилення жирів

Жири під дією лугів гідролізуються з утворенням мила та гліцеролу.

А. В колбу з 1 мл рослинної олії додають 20 мл 50 % розчину КОН (NaOH). Вміст колби перемішують і кип'ятять 60 хв. Після омилення розчин доводять до об'єму 20 мл дистильованою водою, таким чином отримують розчин калієвого мила. Записують рівняння гідролізу жиру.

Б. В широкій пробірці 2 мл олії рослинної олії змішують з 5 мл спиртового розчину калій гідроксиду (30 г КОН розчиняють в 20 мл води, після охолодження перемішують з 200 мл спирту). Пробірку закрити зворотним холодильником і нагрівають на киплячій водяній бані до повного омилення. Показник повного омилення – відсутність жирних плям на поверхні води, в яку добавлена крапля гідролізату.

Гідролізат розводять 6 мл води, і отриманий розчин мила використовують для виявлення складових частин жиру: гліцеролу й жирних кислот.

Дослід А.1.5.1. Утворення вільних жирних кислот

При додаванні до мила концентрованої хлоридної кислоти утворюються вільні жирні кислоти. В пробірку з 2 мл розчину калієвого мила додають 0,5 мл концентрованої хлоридної кислоти. Випадає осад вільних жирних кислот. Жирні кислоти, що утворилися, нерозчинні у воді та будуть знаходитись у верхній частині вмісту пробірки.

Вміст пробірки фільтрують і промивають на фільтрі дистильованою водою до зникнення кислоти на лакмус реакції промивних вод.

Частину осаду жирних кислот розчиняють в діетиловому етері і доливають у пробірку, де знаходиться 1-2 мл спирту, додають 1 краплю розчину соди, 2 краплі фенолфталеїну. Рожеве забарвлення зникає, відбувається нейтралізація соди вільними жирними кислотами. Виділені вільні жирні кислоти жирні на дотик і маслять папір.

Дослід А.1.5.2. Якісна реакція на гліцерол з купрум (II) гідроксидом

Багатоатомні спирти (наприклад, гліцерол) утворюють з купрум (II) гідроксидом комплексні сполуки темно-синього кольору.

До профільтрованого гідролізату додати 8-10 крапель 10 % розчину NaOH і 1-2 краплі 2 % розчину купрум (II) сульфату. Записують рівняння реакції. Роблять висновки.

Дослід А.1.5.3. Висолування мила та розчинність різних мил

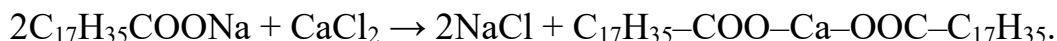
Частину гідролізату наливають у пробірку і насичують кристалічним NaCl. Мило висолується, тобто випадає з розчину.

Гідролізат, що залишився, розливають у 5 пробірок. У першу додають дистильовану воду і збовтують. Утворюється піна.

У другу доливають декілька крапель розчину CaCl₂. Випадає нерозчинний осад кальцієвого мила.

У третю пробірку доливають декілька крапель 10 % розчину CuSO₄ (ω=10 %). При цьому випадає осад мідного мила.

У четверту додають декілька крапель AgNO₃ – випадає осад срібного мила. У п'яту додають декілька крапель Pb(CH₃COO)₂, випадає осад свинцевої солі (свинцевий пластир). Випадають нерозчинні у воді мила лужноземельних і важких металів:



Нерозчинністю кальцієвих і магнієвих мил пояснюється погана милкість твердої води. При нагріванні свинцевого мила виходить в'язкий, клейкий пластир, що має велике значення в медицині і ветеринарії.

П'яту пробірку розбавляють водою і збовтують. У результаті зниження поверхневого натягу утворюється піна.

Дослід А.1.6. Акролеїнова реакція

За допомогою проби на акролеїн визначають присутність гліцеролу в жирах. Гліцерол окиснюється до акролеїну (ненасиченого альдегіду), який має різкий подразнюючий запах (пригорілого сала).

В суху пробірку вносять декілька крапель рослинної олії або шматок твердого жиру і додають небагато порошку KHSO_4 (NaHSO_4) або H_3BO_3 та обережно нагрівають. Написати рівняння реакції. Зробити висновки з дослідів.

Дослід А.1.7. Реакція Вітбі на наявність стеринів в олії

У суху пробірку наливають 1 мл хлороформу, додають 2-3 краплі олії і легко перемішують до розчинення олії і додають по стінці пробірки 1 мл концентрованої сульфатної кислоти. Вміст пробірок обережно перемішують. Верхній хлороформний шар набуває вишнево-червоного забарвлення, нижній, кислотний – у червоно-коричневий із зеленою флюоресценцією.

Б. Якісні реакції на холестерол

Реакції якісного визначення холестеролу ґрунтуються на його здатності перетворюватися з вторинного спирту в ненасичений вуглеводень.

Дослід Б.1.1. Реакція Шиффа

Однією з найбільш специфічних є реакція з фуксинсульфатною кислотою (реактивом Шиффа). Безбарвний розчин фуксинсульфатної кислоти під дією альдегідів набуває червоно-фіолетового або синьо-фіолетового забарвлення.

А. У пробірку наливають 1 мл олії, додають 0,5 мл реактива Шиффа і перемішують. Якщо в рідині є альдегіди, то з'являється червоно-фіолетове або синьо-фіолетове забарвлення. Якщо забарвлення не з'явилося через 20 хвилин після початку дослідження, то це свідчить про відсутність альдегідів в олії.

Б. У пробірку вносять 1 мл розчину холестеролу у хлороформі. По стінці пробірки обережно додають 1 мл концентрованої сульфатної кислоти. На межі поділу фаз утворюється кільце червоного кольору.

Дослід Б.1.2. Реакція Сальковського

У суху пробірку вносять 0,5 мл розчину холестеролу у хлороформі, додають 0,5 мл концентрованої сульфатної кислоти і обережно струшують.

Після розшарування фаз спостерігають зміну забарвлення: верхній шар, що містить холестерол у хлороформі, забарвлюється у пурпурово-червоний колір, а нижній (кислотний шар) – у темно-червоний колір з зеленою флюоресценцією.

Розчин холестеролу у хлороформі зливають у фарфорову чашку.

Забарвлення розчину з часом переходить у фіолетове, потім у зелене і нарешті у жовте.

Дослід Б.1.3. Реакція Лібермана-Бурхарда

У суху пробірку вносять 1 мл розчину холестеролу у хлороформі, додають 10 крапель оцтового ангідриду і дві краплі концентрованої сульфатної кислоти. Вміст пробірки ретельно струшують.

Спостерігають утворення червоного забарвлення, яке переходить у червоно-фіолетове, фіолетове, синє й врешті у зелене (при незначному вмісті холестеролу у розчині утворюється відразу зелене забарвлення).

Дослід Б.1.4. Реакція Уайтбі

Холестерол та його похідні (естери, стерини і стероїди) при взаємодії з деякими речовинами (нітратна кислота, бром, суміш формаліну з сульфатною кислотою) утворюють характерні забарвлені сполуки (хромофори) різного кольору та відтінку.

До 2 мл розчину холестеролу у хлороформі додають 2 мл суміші концентрованої сульфатної кислоти з формаліном (50:1) і струшують.

Верхній шар забарвлюється у вишнево-червоний колір, а нижній – в бурочервоний з інтенсивною зеленою флуоресценцією.

Верхній шар, що містить холестерол, зливають у суху пробірку та додають 2–3 краплі оцтового ангідриду.

Виникає синє забарвлення, яке повільно переходить у зелене.

В. Одержання та фізико-хімічні властивості фосфоліпідів

Дослід В.1.1. Виділення лецитину з яєчного жовтка. Якісні реакції на лецитин

У хімічний стакан поміщають 200–300 мг висушеного та розтертого яєчного жовтка, додають 15 мл гарячого спирту й перемішують. Через 10–15 хвилин суміш охолоджують і фільтрують у суху пробірку, при цьому одержують прозорий фільтрат, що є спиртовим розчином лецитину. З фільтратом проводять реакції на лецитин.

А. Дослідження нерозчинності лецитину. В суху пробірку наливають 2–3 мл ацетону й краплями додають отриманий фільтрат. Спостерігають утворення помутніння, а згодом випадає осад лецитину, що свідчить про нерозчинність лецитину у ацетоні.

Б. Дослідження емульгуючої дії лецитину. У другу пробірку до 2–3 мл фільтрату додають краплями дистильовану воду. Спостерігають утворення стійкої емульсії.

В. Дослідження осадження лецитину. У суху пробірку до 5 крапель спиртового розчину лецитину додають 1-2 краплі насиченого спиртового розчину кадмію хлориду. Виникає нерозчинна кадмієва сполука лецитину.

Дослід В.1.2. Гідроліз лецитину

У широку пробірку наливають 5–10 крапель спиртового розчину лецитину, додають 3–5 мл 10 %-ного розчину натрій гідроксиду і кип'ятять 5–10 хв.

У результаті гідролізу лецитин розпадається на гліцерол, жирні кислоти, холін і фосфатну кислоту. Холін при гідролізі перетворюється на триметиламін $N(CH_3)_3$, що і виявляється за запахом оселедцевого розсолу.

Фосфатну кислоту можна відкрити при нагріванні з амонію молібдатом.

Запитання для самоперевірки

1. Які речовини називаються ліпідами?
2. Назвіть основні принципи класифікації ліпідів за їхніми фізикохімічними та біологічними властивостями.
3. Дайте коротку характеристику гліцеридам.
4. Яка залежність між жирнокислотним складом і властивостями тригліцеридів?
5. Напишіть формули основних видів жирних кислот, які входять до складу тригліцеридів.
6. Напишіть схему утворення жирів з гліцерину і жирних кислот.
7. Гідроліз жирів: суть, умови, продукти гідролізу.
8. Переетерифікація жирів: суть, умови, продукти переетерифікації.
9. Гідрогенізація жирів: суть, умови, продукти гідрогенізації.
10. Окиснення: суть, умови, продукти окиснення.
11. Як впливає висока термообробка на якість жирів?
12. Які методи стабілізації якості жирів Ви знаєте?
13. Наведіть фактори що негативно впливають на якість жиру та розкрийте суть процесів.
14. Яку роль відіграють ліпіди в організмі людини?
15. Яке значення мають фосфоліпіди?
16. Які функції поліненасичених жирних кислот в організмі людини?
17. Яка потреба людини в жирах?

2.2. Лабораторна робота № 2

ВИДІЛЕННЯ ОЛІЇ З РОСЛИННОЇ СИРОВИНИ (НАСІННЯ, ПЛОДІВ) МЕТОДОМ ЕКСТРАКЦІЇ ОРГАНІЧНИМИ РОЗЧИННИКАМИ

Мета роботи: ознайомитися з методами одержання жирних олій, навчитися вилучати олії з рослинної сировини з застосуванням методу екстракції органічними розчинниками.

Теоретичні відомості

Процес екстракції олії з застосуванням розчинника забезпечує практично повне відділення олії з підготовленого відповідним способом олійного матеріалу, який пройшов попереднє знежирення пресуванням. Внаслідок відносно низьких температур як на стадії екстракції, так і на інших стадіях екстракційного виробництва, створюються умови збереження якості продуктів (олії і шроту).

Метод ґрунтується на вилученні ліпідів з рослинної сировини методом екстракції органічними розчинниками.

Для екстрагування використовують апарат Сокслета (див. Додаток А).

В якості сировини використовують насіння соняшника, гарбуза, фенхелю, кмину, коріандру, обліпихи, шипшини, льону, коноплі, гірчиці і інш.

Органічні розчинники: діетиловий етер, петролейний ефір, *n*-гексан.

Експериментальна частина

Олієвмісне насіння масою близько 50 г завчасно висушене при температурі 102-105°C від 30 хв. до 2 год. в залежності від вмісту вологи. Вміст вологи підсушеного насіння повинен бути близько 3-3,5 %.

Потім підсушене насіння ретельно подрібнюють. Подрібнене насіння поміщають у два завчасно приготовлені екстракційні патрони, які виготовляють із фільтрувального паперу.

Патрон поміщають в екстрактор, який з'єднують із круглодонною колбою та зворотнім холодильником, що має водяне охолодження.

У зібраний апарат Сокслета через холодильник наливають розчинник так, щоб патрон був повністю покритий шаром розчинника. Кількість розчинника становить $\frac{2}{3}$ об'єму колби.

Колбу апарату встановлюють у гніздо електричної бані (або водяної бані). Холодильник заповнюють водою і нагріють колбу відповідним нагрівачем.

Екстрагування олії проводять протягом 3-4 годин при температурі, яка близька до температури кипіння розчинника. Початком екстракції вважається той момент, коли розчинник з насадки екстрактора зіллється в колбу вдруге. Після цього екстракцію проводять неперервно.

Після закінчення екстракції перестають нагрівати колбу, дають їй вистигнути, виключають воду і знімають холодильник.

Розчинник відганяють за допомогою приладу для прямої перегонки. Залишки розчинника упарюють за допомогою водострумного насосу. Пробу відфільтровують на скляному фільтрі з приєднаним водострумним насосом.

Колбу з олією зважують і за різницею мас порожньої колби і колби з олією знаходять масу олії та вираховують вихід олії в перерахунку на 100 г сухого насіння. Перше зважування проводять через 1,5 год.; наступне – через 30 хв. Колби з олією зважують після охолодження в екстракторі протягом 40-60 хв.

Масова частка олії в очищеному від домішок, подрібненому і підсушеному насінні (%):

$$M_c = 100(m - m_1)/m_2,$$

де m – маса колби з олією, m_1 – маса пустої колби, $(m - m_1)$ – кількість олії, m_2 – наважка подрібненого насіння.

Завдання:

1. Зобразити схематично апарат Сокслета для екстрагування.
2. Вказати олієвмісну сировину, вибрану для вилучення олії даним методом.
3. Провести виділення олії з рослинної сировини методом екстракції підібраним органічним розчинником згідно наведеної методики.
4. Провести розрахунки масової частки олії в сировині.
5. Провести визначення хімічних показників виділеної олії: кислотного, етерного, пероксидного та йодного чисел і числа омилення олії.

Запитання для самоперевірки

1. В яких культурах найбільший вміст олії?
2. Який хімічний склад жирних олій?
3. Які фізико-хімічні властивості характерні для жирних олій?
4. Які методи вилучення жирних олій з рослинної сировини ви знаєте?
5. Поняття «екстракція».
6. Теоретичні основи процесу екстракції. Доцільність екстракції.
7. Фактори, які впливають на швидкість процесу екстракції.
8. Які органічні розчинники використовують для екстракції жирної олії?
На чому ґрунтується вибір розчинника?
9. Вимоги до розчинників для промислової екстракції.

2.3. Лабораторна робота № 3

РОЗДІЛЕННЯ ЛІПІДНОЇ ФРАКЦІЇ МЕТОДОМ ТОНКОШАРОВОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ В ТОНКОМУ ШАРІ АДСОРБЕНТУ

Мета: ознайомитися із визначенням фракцій ліпідів методом тонкошарової хроматографії в тонкому шарі адсорбенту.

Принцип методу:

Найефективнішим і широко застосовуваним методом фракціонування суміші ліпідів є хроматографія. Головну роль при аналітичному фракціонуванні відіграє адсорбційна хроматографія в тонкому шарі сорбенту. В основі адсорбційної хроматографії лежить розділення ліпідів відповідно до їх полярності. Адсорбентом при тонкошаровій хроматографії служить силікагель. Сила взаємодії ліпиду з адсорбентом визначається в основному водневими та іонними зв'язками, в меншій мірі – силами Ван-дер-Ваальса.

Силікагель є продуктом полімеризації ортокремнієвої кислоти (H_4SiO_4). Адсорбційні властивості силікагелю обумовлені присутністю на поверхні зерен гідроксильних груп, які за рахунок водневих зв'язків взаємодіють один з одним і водою. Гідратований силікагель мало активний як адсорбент. При нагріванні від 50 до 110°C відбувається дегідратація, що приводить до значного збільшення адсорбційної здатності силікагелю.

Тонкошарова хроматографія (ТШХ) застосовується для швидкого розділення речовин на тонкому шарі сорбенту, нанесеному на скляну пластинку.

Розділення може ґрунтуватись на адсорбції, розподілі чи іонному обміні в залежності від характеру сорбенту та розчинників.

Тонкошарова хроматографія застосовується в двох модифікаціях:

- на закріпленому шарі сорбенту;
- на незакріпленому шарі сорбенту.

Тонкошарова хроматографія широко використовується для розділення складних сумішей ліпідів на групи та індивідуальні речовини, при цьому найчастіше застосовується спосіб *висхідної* хроматографії. Тонкошарова хроматографія характеризується високою розділювальною здатністю і швидкістю розділення, високою точністю, відзначається зручністю і простотою виконання.

Ліпіди екстрагують з тканин сумішшю метанолу і хлороформу (1:1), яка руйнує ліпопротеїнові комплекси біологічних мембран і тим самим дає можливість якомога повніше вилучати ліпіди. Найбільш повна екстракція ліпідів з тканин досягається тоді, коли тканину гомогенізують із сумішшю метанолу і хлороформу у співвідношенні, при якому забезпечується утворення

однофазної системи з водою, що міститься в тканині. Додаючи до гомогенату надлишок хлороформу і воду, отримують двофазну систему, яку легко розділити. Хлороформний шар містить розчинені в ньому ліпіди. Втрата ліпідів з шаром метанол-вода і із залишком їх у тканині незначна.

Суть методу: Для аналітичного розділення ліпідів виготовляють пластинки з товщиною шару силікагелю не більше 0,25 мм або використовують готові пластини *Silufol* (Силуфол). В цих пластинках тонкий шар силікагелю закріплений на алюмінієвій фользі за допомогою крохмалю. При підготовці пластинок *Silufol* для роботи їх необхідно активізувати нагріванням при 105°C протягом 40 хв.

Розділення ліпідів проводять на тонкій пластинці, покритій тонким шаром сорбенту – силікагелем або алюміній оксидом або з використанням пластинок *Silufol* (силуфол – готові пластинки на основі алюмінієвої фольги). Досліджену суміш, розчинену у відповідному розчиннику (найчастіше, хлороформний екстракт ліпідів), наносять у вигляді крапель на пластинку *Silufol* і проводять хроматографічне розділення ліпідів у системі розчинників *n*-гексан–діетиловий етер–оцтова кислота у співвідношенні 80:20:1. Розчинник піднімається по шару сорбенту під дією капілярних сил. При цьому різні сполуки, що знаходяться у суміші, піднімаються з різною швидкістю в залежності від їх спорідненості до сорбенту. При досягненні розчинником верхнього шару сорбенту сполуки в ідеальному випадку повинні повністю розділитись.

У якості розчинників при тонкошаровій хроматографії ліпідів часто використовують системи:

- 1) гексан – діетиловий етер – оцтова кислота;
- 2) хлороформ – метиловий спирт – амоніак;
- 3) хлороформ – метиловий спирт – вода та ін.

Проявляють хроматограми парами I₂, 10 % розчином фосфорномолібденової кислоти.

Положення плям речовин, які розділяються, на хроматограмі визначається за забарвленням, флуоресценцією, поглинанням ультрафіолетовим світлом, а також за обприскуванням різними реагентами (нінгідрином, родаміном В, калій перманганатом у сульфатній кислоті, ганусовим (анісовим) альдегідом у сульфатній кислоті, парою бром, йоду тощо), котрі реагують з певними сполуками в плямі з утворенням зафарбованих продуктів; дія таких барвників здебільшого базується на специфічних кількісних кольорових реакціях.

Положення плям характеризується значенням R_f – відстанню від точки старту до середини плями, поділеній на загальну відстань, яку пройшов розчинник від лінії старту:

$$R_f = \frac{x_l}{L}$$

де x_l – відстань, яку пройшла речовина; L – відстань, яку пройшов розчинник.

Відстань R_f є індивідуальною характеристикою кожної речовини в даній системі за даних умов, але залежить від температури, якості сорбенту, складу елюенту (система розчинників). Тому хроматографування проводиться разом з відомими сполуками (стандартами, тобто чистими речовинами, вміст яких передбачається в досліджуваному розчині). В цьому випадку положення компонентів суміші, яку розділяють на хроматограмі, визначають порівнюючи його з положенням речовин – свідків:

$$R_x = \frac{x}{X_x}$$

де X_x – відстань, яку пройшла стандартна речовина x .

При подібних розрахунках величина R_f за визначенням завжди менша одиниці, а значення R_x може бути більше одиниці.

Експериментальна частина

Основні операції методу ТШХ:

- підбір ТШХ-пластинки та сорбенту;
- приготування та нанесення зразка;
- вибір системи розчинників та камери для хроматографування;
- проявлення хроматограми.

У плоскодонну колбу об'ємом 50 мл з пришліфованим корком вносять 3-4 г ретельно подрібненої м'язової тканини, зваженої з точністю до 0,01 г, і додають 13 мл метанолу, перемішуючи і розминаючи тканину до одержання однорідної маси. Потім додають 6,5 мл хлороформу й інтенсивно збовтують суміш протягом 10 хв.

Після цього додають ще 6,5 мл розчину цинк ацетату ($\omega=2\%$) і струшують 30 секунд. Вміст посудини фільтрують крізь паперовий фільтр на лійці Бюхнера під вакуумом. Тканину, що залишилась на фільтрі, разом з фільтром переносять у ту ж колбу для повторної екстракції ліпідів. Вносять у колбу 10 мл хлороформу і енергійно збовтують протягом 10 хв. Повторний екстракт фільтрують у ту ж колбу. Посудину, у якій проводили екстракцію ліпідів, ополіскують 5 мл хлороформу, ним же промивають тканину на фільтрі.

Весь фільтрат збирають у ділильну лійку об'ємом 50 мл. Після відстоювання і розділення рідких фаз зливають хлороформний шар у суху посудину.

Пластинку *Silufol* (15×15 см) промивають розчинником (*n*-гексан–діетиловий етер–льодяна оцтова кислота (80:20:1) і висушують у термостаті протягом 30 хв. при 100°C.

Відмічаємо *стартову лінію*, приблизно за 2 см від ближнього краю пластинки і за допомогою тоненького капіляра наносимо на неї розчин досліджуваної олії, на відстані 3 см одна від одної (див. *Схема А*). На пластинку в 2 см від нижнього краю наносять хлороформний екстракт ліпідів за допомогою мікропіпетки на 0,01 мл. Маса нанесених ліпідів повинна бути близько 20 мкг.

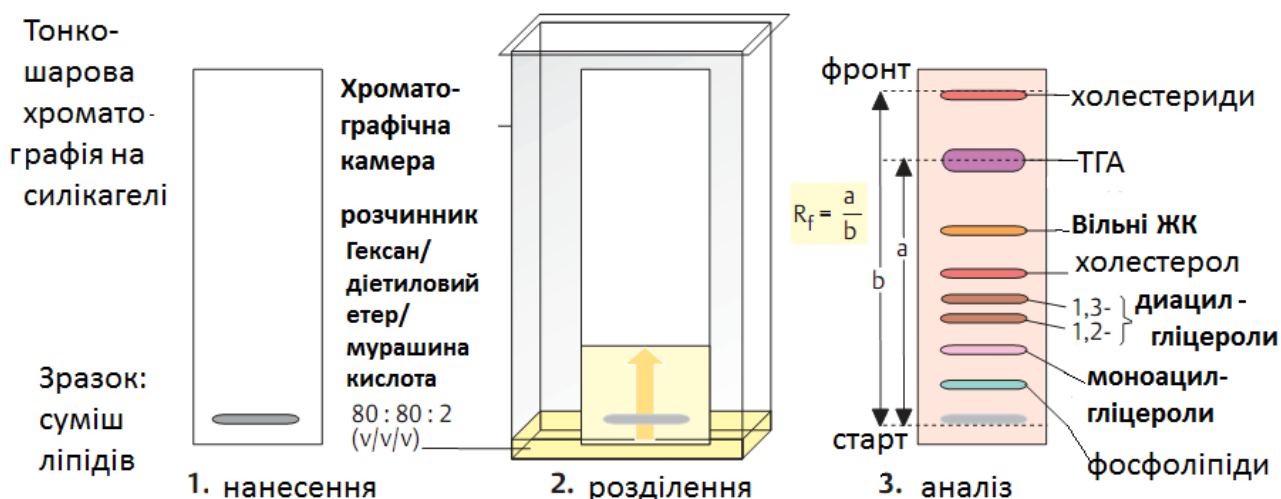
На дно ексикатора вносять розчинник для хроматографії так, щоб висота рідини була близько 1 см. Опускають пластинку нижнім кінцем у розчинник, ставлячи її похило під кутом близько 60°, закривають ексикатор пришліфованою кришкою і проводять проявлення хроматограми висхідним способом на відстань близько 10 см.

Чекаємо доки розчинник підніметься майже до верхнього кінця пластинки, виймаємо пластинку, злегка стукнувши по стінці камери, щоб було видно межу, до якої дійшов розчинник (фіксуємо *лінію фінішу*).

Одночасно проводять хроматографування стандартів – чистих речовин, вміст яких передбачається в досліджуваному розчині.

Схема А

Схема тонкошарової хроматографії



Після закінчення проявлення пластинку висушують у витяжній шафі. Плями ліпідів на хроматограмі виявляють у парах йоду. Виявлення ліпідів за допомогою парів йоду є зручним методом завдяки своїй швидкості,

універсальності і відсутності руйнуючої дії на ліпіди. Для цього в скляний стакан кладуть декілька кристалів йоду, накривають його склом і ставлять на водяну баню при 60°C на кілька хвилин. Відбувається сублімація йоду, пари йоду наповнюють стакан. У стакан з парами йоду при кімнатній температурі вносять хроматограму і витримують там близько 5 хв. Розташування ліпідів виявляється у вигляді жовто-коричневих плям на білому або жовтуватому фоні пластинки.

Ліпіди розташовуються на хроматограмі в порядку збільшення величини R_f так: фосфоліпіди, холестерол, моноацилгліцероли, діацилгліцероли, вільні жирні кислоти, триацилгліцероли, стериди.

Проводять відповідні розрахунки величин R_f та R_x .

Запитання для самоперевірки

1. Дайте характеристику найважливіших груп ліпідів.
2. На чому базуються методи кількісного визначення ліпідів?
3. Поясніть принципи розділення ліпідів методом тонкошарової хроматографії.
4. Що лежить в основі адсорбційної хроматографії відносно розділення ліпідів?
5. Опишіть хід проведення тонкошарової хроматографії.
6. Що розуміють під коефіцієнтом рухливості, для чого він використовується?
7. Які речовини є адсорбентами при тонкошаровій хроматографії?
8. Чим обумовлені адсорбційні властивості силікагелю?
9. Які системи використовують у якості розчинників при тонкошаровій хроматографії ліпідів?
10. Опишіть принципову схему проведення тонкошарової хроматографії.

2.4. Лабораторна робота № 4

ВИЗНАЧЕННЯ ФІЗИЧНИХ ХАРАКТЕРИСТИК ЛІПІДІВ: ПОКАЗНИКА КУТА ЗАЛОМЛЕННЯ, ГУСТИНИ ОЛІЇ, ТЕМПЕРАТУРИ ПЛАВЛЕННЯ ЖИРІВ ТА ВИЗНАЧЕННЯ КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ РЕЧОВИН, ЯКІ НЕ ОМИЛЮЮТЬСЯ

Мета: ознайомитися із методиками визначення основних фізичних характеристик ліпідів, таких як показник кута заломлення, густина, температура плавлення жирів, а також визначення вмісту речовин, які не омилуються.

Короткі теоретичні відомості

Речовини, які не омилуються – речовини, що входять до складу жирів і які не взаємодіють з лугами в умовах омилення, які виділяються петролейним або діетиловим ефіром з омилених жирів. До групи неомилених складових частин жирів відносяться стерини, високомолекулярні спирти, вуглеводи, деякі барвники, а також інші специфічні супутні речовини, що обумовлюють характерні смак, запах і колір жирів.

Визначення вмісту речовин, які не омилуються, в рослинних оліях дозволяє судити про натуральність і чистоту продукту.

Визначення вмісту речовин, які не омилуються, в рослинних оліях проводять згідно методики, затвердженої державним стандартом.

Тваринні жири є сумішшю триацилгліцеридів вищих жирних кислот і супутніх речовин, до яких належать фосфатиди, стеари-ди, токофероли, пігменти, продукти гідролізу гліцеринів тощо.

Густина жирів залежить від густини жирних кислот, що входять до складу триацилгліцеридів і температури. При 15°C вона становить 915-961 кг/м³.

Густина насичених жирних кислот зменшується із збільшенням довжини ланцюга їх молекул (зі збільшенням молекулярної маси). Густина ненасичених жирних кислот більша густини відповідних їм насичених жирних кислот. Слід зазначити, що ненасичені кислоти із спряженими подвійними зв'язками мають більшу густину ніж відповідні їм кислоти, що мають таку ж кількість ізольованих подвійних зв'язків.

Експериментальна частина

Дослід 4.1. Визначення вмісту речовин, які не омилуються

Пробу досліджуваної олії добре перемішують і перед проведенням дослідження фільтрують.

У колбу для омилення (об'ємом 250 мл) поміщають 5 г олії, зваженої з точністю до 0,005 г і приливають 50 мл 2 н спиртового розчину калій гідроксиду. Колбу з'єднують зі зворотнім холодильником і кип'ятять на водяній бані протягом 50-60 хв., періодично струшуючи колбу. Після цього додають 50 мл води і якщо при цьому рідина знову мутніє, продовжують повторне кип'ятіння.

Вміст колби охолоджують, кількісно переносять в ділильну лійку і ополіскують колбу декілька раз петролейним ефіром (загальний об'єм 50 мл).

Всі промивні порції ефіру переносять в ту ж ділильну лійку, сильно струшують її протягом 1 хв., щоб ефір добре змішався з розчином мила. Суміш залишають стояти до повного розділення її на два шари.

Мильний розчин переносять в другу ділильну лійку, струшують з новою порцією (50 мл) петролейного ефіру, дають відстоятись, відділяють і екстрагують мильний розчин третій раз 50 мл петролейного ефіру.

Для запобігання утворення емульсії, додають 5-10 мл етанолу або 2-3 мл 3-5 %-ого розчину їдкового калі.

Об'єднані ефірні витяжки спочатку промивають слаболужним 50 %-им етанолом, а потім для видалення залишків мила повторно промивають порціями по 25 мл 50 %-им спиртом (без луку) до тих пір, поки фенолфталеїн не перестане давати червоного забарвлення промивної рідини (попередньо розбавленої подвійним-потрійним об'ємом води).

Промиту ефірну витяжку кількісно переносять в суху попередньо зважену колбу, зливаючи розчин через лійку з паперовим фільтром.

Петролейний ефір відганяють на водяній бані. Одержаний залишок висушують при температурі 80°C до постійної маси, зважуючи через кожні 15 хв. За постійну приймають масу, яка після 15-хвилинної сушки відрізняється від попередньої не більше ніж на 0,001 г.

Вміст речовин, які не омилюються, в досліджуваній рослинній олії у відсотках розраховують за формулою:

$$X = \frac{m_1}{m} \cdot 100,$$

де m – наважка олії, г;

m_1 – маса залишку після висушування, г.

Кінцевий результат виражається як середнє арифметичне двох паралельних визначень.

Дослід 4.2. Визначення показника заломлення олії

Показник заломлення є характерною властивістю кожної індивідуальної речовини. Коли промінь монохроматичного світла переходить з одного

середовища у інший, його швидкість змінюється, а на границі поділу між середовищами змінюється також і його напрямок. Відхилення променя відбувається за законом Снелліуса:

$$n = \sin \alpha / \sin \beta = C_1 / C_2,$$

де C_1 і C_2 – швидкість світла в першому і другому середовищі відповідно; α і β – кути падіння і заломлення променя світла відповідно при переході з першого середовища у друге.

Показником заломлення хвилі певної довжини називається постійне відношення $\sin \alpha / \sin \beta = n$. Показник заломлення сильно залежить від температури. Крім того, він різко змінюється зі зміною довжини хвилі світла (дисперсія). За звичай показник заломлення дається для спектральної лінії жовтого натрієвого полум'я (D -лінія, 589,3 нм). Температуру і довжину хвилі (або спектральну лінію) відмічають індексами, наприклад n^{20}_D (за ДОСТом показник заломлення визначають при 20°C).

Визначення показника заломлення речовин проводять на рефрактометрі (рис. 1). Рефрактометр вимірює граничний кут повного внутрішнього відбивання. Він сконструйований так, що і при поліхроматичному (наприклад, денному) світлі відмічає показник заломлення для D -лінії.

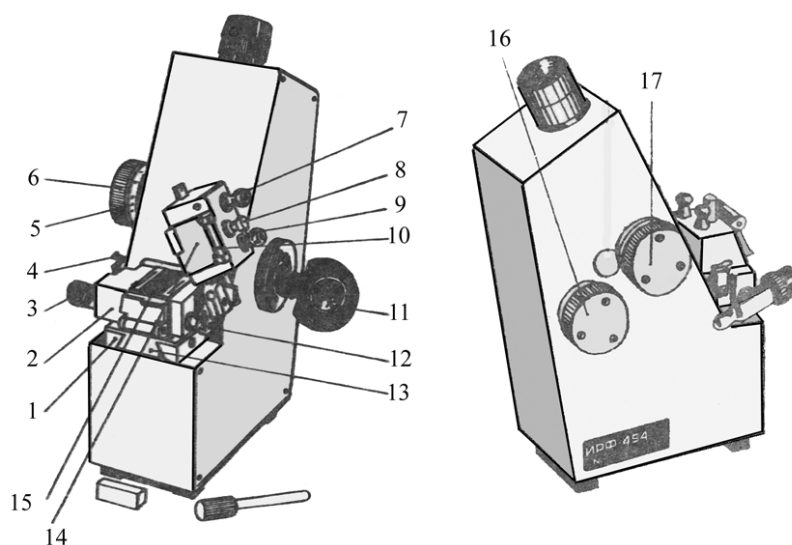


Рис. 1. Рефрактометр ІРФ 454:

1, 13 – направляючі, 2 – блок рефрактометричний, 3, 7, 9, 12 – штуцери, 4 – гачок, 5 – шкала, 6 – ноніус, 8 – рукоятка, 10 – шарнір, 11, 15 – дзеркала, 14 – шторка, 16, 17 – маховики.

Звичайно підвищення температури на 1°C зменшує показник заломлення на 0,0004, відповідно пониження температури на 1°C збільшує показник заломлення на 0,0004.

Показник заломлення є важливою величиною, яка дає уявлення про склад ліпідів чи інших речовин. На основі його визначення розроблені методи швидкого кількісного визначення різних хімічних речовин, зокрема вільних жирних кислот.

Техніка проведення: На призму рефрактометра наносять краплю олії за допомогою скляної палички, не торкаючись до полірованої поверхні. Закривши призму, встановлюють чіткість зображення та оптимальне освітлення. Вимірюють показник заломлення олії при кімнатній температурі. Внісши в результат відповідну поправку, одержують приведені значення показника заломлення при температурі 20°C.

Дослід 4.3. Визначення густини олії

Густина – це міра кількості речовини, виражена в грамах або кілограмах, в одиниці об'єму відповідно в 1 см³ або 1 м³.

Густина відноситься до характерних констант чистої речовини. Величина її залежить від температури. Зазвичай визначають відносну густину, найчастіше за водою, густина якої при 4°C майже дорівнює одиниці (0,99997 г/см³).

Визначення густини проводять у пікнометрі ємністю 1-2 мл. Чистий та сухий пікнометр зважують на аналітичних вагах при кімнатній температурі. Потім визначають «водне число пікнометра», що є постійним для кожного пікнометра і відповідає масі води в об'ємі пікнометра при 20°C, приведеної до маси води при 4°C.

$$\frac{m_{H_2O}(20^\circ C)}{m_{H_2O}(4^\circ C)} = \frac{0,99823}{1}, \quad x(m_{H_2O}(4^\circ C)) = \frac{m_{H_2O}(20^\circ C)}{0,99823},$$

0,99823 г/см³ – густина води при 20°C.

Отримана величина $m_{H_2O}(4^\circ C)$ або x є «водним числом» або «водною константою» пікнометра.

Техніка проведення: Для визначення густини досліджуваної рідини зважують сухий, чистий і порівнюють його масу з масою, визначеною при визначенні «водної константи» (вони повинні бути рівними).

Потім пікнометр заповнюють досліджуваною рідиною та проводять аналогічні вимірювання, як для води.

Відношення маси речовини в об'ємі даного пікнометра до величини «водної константи» відповідає густині даної речовини:

$$d_4^{20} = \frac{m - m_n}{B},$$

B – «водна константа» пікнометра;

m – маса пікнометра з досліджуваною речовиною;

m_n – маса пікнометра порожнього.

За результат аналізу приймають середнє арифметичне трьох паралельних визначень.

Дослід 4.5. Визначення температури плавлення жирів

Температура плавлення жиру – температура, при якій жир переходить із твердого складу в рідкий. Оскільки натуральні жири є сумішшю триацилгліцеридів, які мають різні температури плавлення, перехід їх в рідкий стан відбувається в межах деякого інтервалу температур. Температура плавлення залежить від специфічних особливостей ацилгліцеридів і від їх жирнокислотного складу. У насичених жирних кислот температура плавлення зростає з збільшенням молекулярної маси. У ненасичених жирних кислот на температуру плавлення впливає наявність подвійного зв'язку і стереоконфігурації молекули.

Невелику кількість зразка жиру, який досліджують, нагрівають у фарфоровій чашці на водяній бані до повного розплавлення. Сухий, відкритий з двох країв капіляр із тонкого скла з внутрішнім діаметром $1,0 \div 1,2$ мм та довжиною $50 \div 60$ мм заглиблюють одним краєм в розплавлений жир на 10 мм. Капіляр з жиром витримують на льоду. Після цього капіляр прикріплюють до термометра з допомогою тоненького гумового кільця таким чином, щоб стовпчик жиру знаходився на одному рівні з ртутною кулькою термометру. Потім капіляр занурюють в стакан з водою, температура якої $15-18^\circ\text{C}$ на 3-4 см. Помішуючи нагрівають воду. Фіксують температуру, при якій жир в капілярі починає підніматись; визначення проводять 2 рази. За результат приймають середнє арифметичне значення двох паралельних визначень, які не повинні різнитися більш ніж $0,5^\circ\text{C}$.

Запитання для самоперевірки

1. Залежно від якої здатності ліпиди ділять на омилювані і неомилювані?
2. Які групи ліпоподібних речовин відносяться до групи неомилюваних?
3. Які групи ліпідів відносять до групи омилюваних?
4. Поясніть класифікацію ліпідів за фізичними властивостями.
5. Опишіть основні фізичні константи жирів. На що вони впливають?
6. Фізичний зміст величини показника заломлення. Яким методом визначають величину показника заломлення олій?
7. Принципова схема роботи рефрактометра.
8. Фізичний зміст густини. Яким методом визначають густину олій?
9. Як залежить густина жирних кислот від їх природи?

10. Як впливає температура на густину жирних кислот?
11. Фізичний зміст температури плавлення. Яким методом визначають температуру плавлення олій?
12. Які чинники і як впливають на температуру плавлення жирних кислот?

2.5. Лабораторна робота № 5

ВИЗНАЧЕННЯ ХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ ЛІПІДІВ. ВИЗНАЧЕННЯ КИСЛОТНОГО, ЕСТЕРНОГО, ПЕРОКСИДНОГО ТА ЙОДНОГО ЧИСЕЛ І ЧИСЛА ОМИЛЕННЯ ЖИРІВ

Мета: оволодіти методиками визначення хімічних показників жирів. Визначити та порівняти хімічні параметри олій та жирів різного походження.

Дослідження проводяться з різними жирами рослинного або тваринного походження.

Для експериментальних досліджень беруть невеликі кількості твердого тваринного жиру (наприклад, яловичого), вершкового масла, рослинної олії, риб'ячого жиру.

Короткі теоретичні відомості

Хімічне дослідження жиру полягає головним чином у визначенні числових показників: кислотного, естерного, пероксидного, йодного числа, числа омилення.

Кислотним числом називають кількість міліграмів калій гідроксиду, яка необхідна для нейтралізації вільних кислот, що містяться в 1 г досліджуваного жиру. За величиною кислотного числа можна зробити висновок про доброякісність жиру. Вільні жирні кислоти утворюються головним чином у результаті омилення жиру. Свіжі жири майже нейтральні.

Числом омилення називають кількість міліграмів калій гідроксиду, яка необхідна для нейтралізації вільних кислот та омилення естерів, що містяться в 1 г досліджуваного жиру. Воно характеризує загальну кількість кислот (вільних і зв'язаних у тригліцериди), що входять до складу жиру.

Естерним числом називають кількість міліграмів калій гідроксиду, яка необхідна для омилення естерів, що містяться в 1 г досліджуваної сировини. Естерне число дорівнює різниці між числом омилення та кислотним числом. Величина його залежить від молекулярної маси кислот, що входять до складу жиру: чим вона менша, тим більший показник естерного числа.

Вміст неомильованих речовин у жирах знижує число омилення, як і інші показники жирів.

Пероксидне число відображає ступінь окиснення жиру (олії), зумовлену накопиченням пероксидних сполук (пероксидів і гідропероксидів)

при окисненні жиру в процесі зберігання, особливо активно протікає на світлі. Пероксидне число жиру для ряду харчових продуктів нормується стандартами і є одним із показників, що характеризує їх якість.

Йодне число – це кількість грамів йоду, що витрачається на йодування подвійних зв'язків у 100 г досліджуваного жиру.

Йодне число є одним з найважливіших хімічних констант жирів, бо дає можливість відрізнити окремі групи олій (висихаючі, напіввисихаючі, невисихаючі). Встановлено, що у невисихаючих олій воно коливається в межах $80 \div 100$ одиниць, у напіввисихаючих – $100 \div 140$, висихаючих – $140 \div 200$.

Олії, які не утворюють плівки, називаються *невисихаючими*. Головною їх складовою є гліцериди олеїнової кислоти. Олії, які утворюють щільну плівку, називаються *висихаючими*. Вони містять гліцериди ліноленової кислоти. Олії, які утворюють м'яку плівку, називаються *напіввисихаючими*. Вони містять гліцериди лінолевої кислоти.

Експериментальна частина

Дослід 2.1.1. Визначення числа омилення (ЧО) жиру

Жири характеризуються рядом хімічних показників. Основні з них: кислотне число, ефірне, йодне, пероксидне, число омилення.

Число омилення – показник, що характеризує загальну кількість вільних та зв'язаних жирних кислот (у складі естерів), що входять до складу досліджуваного жиру.

Числом омилення називається кількість мг КОН, яка необхідна для нейтралізації всіх як вільних жирних кислот так і тих, що входять до складу триацилгліцеролів, які містяться в 1 г жиру. Вміст вільних жирних кислот у жирі характеризується кислотним числом, а вміст зв'язаних в естерах кислот – естерним числом.

В одну колбу (дослідна проба) вміщують 0,5 г жиру, в другу (контрольна проба) – 0,5 мл води. В обидві колби доливають по 15 мл 0,5 спиртового розчину КОН, який попередньо приготовлений. Колби кип'ятять із зворотнім холодильником на водяній бані 40-50 хв. до повного омилення гліцеридів та нейтралізації вільних жирних кислот, періодично струшуючи. В обидві колби доливають по 10 крапель 0,1 % розчину фенолфталеїну та титрують теплий розчин 0,5 М розчином НСІ до зникнення рожевого забарвлення (до нейтральної реакції).

Кількість КОН (мг) або число омилення (ЧО), яке пішло на нейтралізацію жирних кислот в 1 мг жиру, дорівнює:

$$ЧО = (B-A) \cdot f \cdot Q / a$$

де $B-A$ – різниця результатів титрування контрольного та дослідного зразків розчином хлоридної кислоти (мл);

a – наважка жиру (г);

f – коефіцієнт поправки на титр 0,5 М розчину HCl;

Q – кількість KOH (28,05 мг), яка еквівалентна 1 мл 0,5 М розчину KOH.

Дослід 2.1.2. Визначення кислотного числа (КЧ) жиру

Кислотне число – показник, що характеризує кількість вільних жирних кислот, які містяться в жирі.

Кислотністю жиру чи кислотним числом називається кількість мг KOH, яка необхідна для нейтралізації вільних жирних кислот, які містяться в 1 г жиру.

До 1 г жиру (рослинна олія) додають 5 мл спирту, нейтралізованого за фенолфталеїном, ретельно перемішують для максимального розчинення вільних жирних кислот та титрують 0,1 М розчином KOH до появи рожевого забарвлення, незникаючого після збовтування.

Кількість KOH (мг) або кислотне число (КЧ), яке пішло на нейтралізацію вільних жирних кислот в 1 г жиру, дорівнює:

$$KЧ = AfQ / a$$

де A – об'єм розчину KOH в мл, який витрачений на титрування дослідної проби;

a – наважка жиру (г);

f – коефіцієнт поправки на титр 0,1 М розчину KOH;

Q – кількість KOH (5,61 мг), яка еквівалентна 1 мл 0,1 М розчину KOH.

Для характеристики кислотності рослинної олії крім кислотного числа часто визначають % вміст вільної олеїнової кислоти O за формулою:

$$O = 0,53 KЧ., KЧ. в мг/$$

Дослід 2.1.3. Визначення естерного числа (ЕЧ) жиру

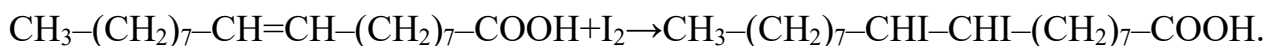
Естерне число – показник, що характеризує вміст естерів у жирі. Естерним числом називається кількість мг KOH, яка необхідна для нейтралізації жирних кислот, які утворюються при омиленні триацилгліцеролів, які містяться в 1 г жиру. Це число визначають як різницю між числом омилення жиру та його кислотним числом.

$$EЧ = ЧО - KЧ.$$

Дослід 2.1.4. Визначення йодного числа (ЙЧ) жиру

Йодне число жиру характеризує рівень ненасичених жирних кислот, що входять до складу даного жиру, як вільних кислот, так і в складі естерів.

Ненасичені сполуки легко приєднують йод за місцем подвійного зв'язку, наприклад:



Йодним числом називається кількість г йоду, яка прореагувала зі 100 г жиру. Це число вказує на наявність в жирі ненасичених жирних кислот.

У колбу з корком вносять близько 5 мл олії. До другої колби (контрольної) вносять рівний об'єм дистильованої води. В обидві додають по 5 мл хлороформу. Колби закривають корками і струшують. У колби (точно) піпеткою додають по 10 мл 0,1 н розчину йоду, закривають корками, струшують і ставлять у темне місце на 5 хвилин. Через 5 хв вміст колб відтитровують 0,05 М розчином $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ спочатку до появи слабкожовтого забарвлення, а після додавання 1 мл 1 % розчину крохмалю титрують до зникнення синього забарвлення.

Йодне число розраховують за формулою:

$$\text{ЙЧ} = (B-A) \cdot f \cdot Q \cdot 100 / a \cdot 1000,$$

де $B-A$ – різниця результатів титрування контрольного та дослідного зразків розчином натрій гіпосульфїту (мл);

a – наважка жиру (г);

f – коефіцієнт поправки на титр 0,05 М розчину $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$;

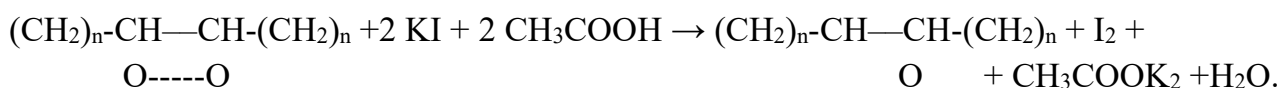
Q – кількість I_2 (12,69 мг), яка еквівалентна 1 мл 0,05 М розчину $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$.

Дослід 2.1.5. Визначення пероксидного числа (ПЧ) в прогірклому жиру

Пероксидне число вказує на вміст пероксидних сполук у жирі, дозволяє виявити окислювальні процеси та наявність продуктів псування значно раніше, ніж це може бути встановлено органолептично.

Пероксидним числом називається кількість мл розчину $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, яка необхідна для титрування вільного йоду, який виділяється при окисненні КІ пероксидним угрупованням 1 г жиру.

Метод базується на здатності пероксидних угруповань жиру реагувати з КІ в кислому середовищі:



Оскільки можливо утворення йоду при окисненні КІ киснем повітря, необхідно проводити контрольні проби.

В першу колбу ємністю 50 мл вміщують наважку жиру 1 г, в другу – 1 мл води (контрольна проба), потім в обидві колби додають по 5 мл льодяної

оцтової кислоти, 6 мл хлороформу та 1 мл свіжоприготованого насиченого розчину KI. Після цього вміст колб струшують, колбу закупорюють і ставлять у темне місце на 10 хвилин. Потім додають 50 мл дистильованої води, титрують йод, що виділяється, 0,005 М розчином $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, додаючи 10 крапель 0,1 % розчину крохмалю в якості індикатора.

Пероксидне число (мл) розраховують за формулою:

$$ПЧ = (A-B) \cdot 0,0002538 \cdot 100 \cdot f,$$

де $B-A$ – різниця результатів титрування дослідного та контрольного зразків розчином $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (мл);

f – коефіцієнт поправки на титр розчину $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$;

0,0002538 – титр 0,002 н розчину натрій тіосульфату за йодом.

Результати дослідів записати у таблицю:

| № | Жири | Хімічні параметри жирів | | | | |
|---|----------------|-------------------------|----|----|----|----|
| | | ЧО | КЧ | ЕЧ | ЙЧ | ПЧ |
| 1 | Тваринний жир | | | | | |
| 2 | Вершкове масло | | | | | |
| 3 | Риб'ячий жир | | | | | |
| 4 | Олія | | | | | |

Зробити відповідні висновки.

Запитання для самоперевірки

1. Які константи жирів визначають для їх характеристики?
2. Основні методи визначення хімічних констант жирів?
3. Розшифруйте поняття: «число омилення», «кислотне число», «естерне число», «пероксидне число», «йодне число» жирів.
4. Як відрізнити насичену кислоту від ненасиченої?
5. Які хімічні показники характеризують ненасиченість жирних кислот жирів?
6. Які хімічні показники характеризують кількість летких і нелетких жирних кислот?
7. Які хімічні показники характеризують вміст усіх жирних кислот, а також зв'язаних у тригліцериди?

СПИСОК РЕКОМЕНДОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

Основна література

1. Губський Ю. І. Біологічна хімія. К.; Тернопіль: Укрмедкнига, 2000. 508 с.
2. Ковальов В. М., Павлій О. І., Ісакова Т. І. Фармакогнозія з основами біохімії рослин. Х.: Вид-во НФаУ, МТК-книга, 2004. 704 с.
3. Кучеренко М. Є. Сучасні методи біохімічних досліджень [Учбовий посібник]. К.: Фітосоціоцентр, 2001. 424 с.
4. Ластухін Ю. О. Хімія природних органічних сполук. Львів: НУ «Львівська політехніка» (ІВЦ «Інтелект+» ІПДО), «Інтелект-Захід», 2005. 864 с.
5. Марінцова Н.Г., Журахівська Л.Р., Губицька І.І., Болібрух Л.Д., Курка М.С., Новіков В.П. Біологічна хімія: підручник. Львів : Видавництво Національного університету «Львівська політехніка», 2009. 324 с.

Допоміжна література

1. Біохімія. Методичні вказівки до виконання лабораторних робіт для студентів спеціальності 227 Фізична реабілітація / укладачі: О. М. Савченко, В. М. Челябієва, О. І. Сиза. Чернігів: ЧНТУ, 2016. 87 с.
2. Полюдек-Фабіні Р., Бейрих Т. Органический анализ: Руководство по анализу органических соединений, в том числе лекарственных веществ. Пер. с нем. А. Б. Томчина. Л.: Химия, 1981. 622 с.
3. Хімія природних сполук. Конспект лекцій: вибрані теми / Укладач: Е. М. Кадикало. Луцьк: П “Зоря–плюс” ВОО ВОІ СОІУ, 2021. 152 с.
4. Кадикало Е. М. Хімія природних сполук: методичні вказівки до лабораторного практикуму. Луцьк: П “Зоря–плюс” ВОО ВОІ СОІУ, 2021. 47 с.

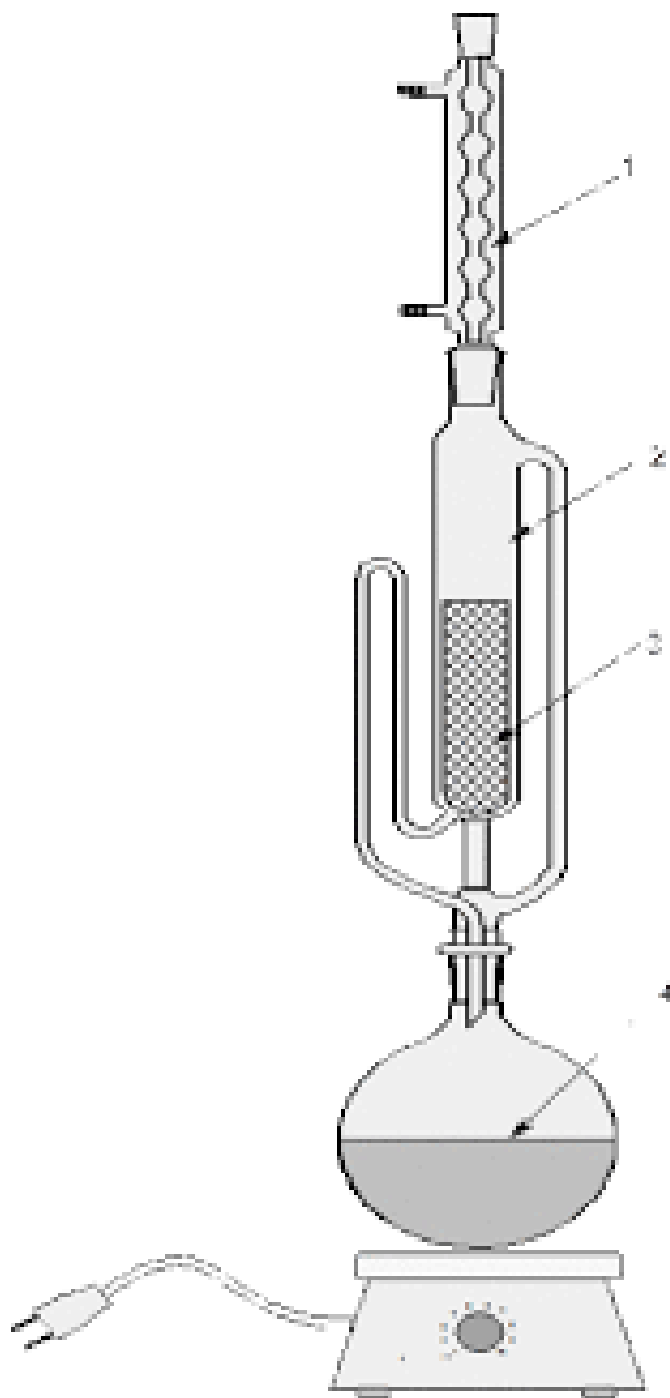


Рис. А.1. Апарат Сокслета: 1 – зворотній холодильник; 2 – екстрактор; 3 – патрон з досліджуваною сировиною; 4 – розчинник.

Навчально-методичне видання

Кадикало Елла Максимівна

ХІМІЯ ЛІПІДІВ

***Методичні рекомендації
до лабораторного практикуму***

Друкується в авторській редакції

Підписано до друку 30. 01. 2023. Формат 60×84 ¹/₁₆
Ум. друк. арк. 2.5. Зам. № 46. Тираж 50
Папір офсетний. Гарнітура Times. Друк офсетний
Друк П “Зоря–плюс” ВОО ВОІ СОІУ
43025, м. Луцьк, вул. Степана Бандери, 20
Свідоцтво гол. упр. внутр. політики
та зв’язків з громад. Волиноблдержадміністрації
ВЛн № 49 від 17.10.2011 р.