

Chemické experimenty k téme Lipidy

Experiment 1 : Dôkaz tukov

a) masťou škvrnou v semenách obsahujúcich tuk

Pomôcky a chemikálie

Kancelársky papier, sklenená tyčinka, závažie (200 g), živočíšny tuk, semená obsahujúce tuk (repka olejná, mak, orechy), Sudan III.

Postup práce

List papiera zložíme na polovicu. Sklenenou tyčinkou kvapneme na papier najprv kvapku vody, potom veľmi malé množstvo tuku. Medzi zložený papier vložíme semená obsahujúce tuk a závažím ich pritlačíme. Papier podržíme proti svetlu.

Pozorovanie a vysvetlenie

Vo všetkých prípadoch papier stmavne a pri podržaní proti svetlu je priesvitný. Škvŕna od vody rýchle schne - neostanú po nej žiadne stopy, zatiaľ čo masťné škvrny ostávajú.

Tuky ako rezervné látky uložené v rastlinných častiach, najmä v semenách, môžeme najjednoduchším spôsobom dokázať „masťou škvrnou“. Voda a éterické oleje z papiera rýchle vyprchajú, odparia sa a papier ostane bez škvrn. Škvrny po tukoch a masťných olejoch ostávajú.

Poznámka

Po pridaní roztoku Sudan III sa tukové, príp. olejové škvrny na papieri zafarbia na červeno [1].

b) v semenách slnečnice

Pomôcky a chemikálie

Skúmavka, tretia miska, nažky slnečnice, roztok etanolu ($w = 70 \%$), glycerol, alkoholový roztok Sudanu III, destilovaná voda.

Postup práce

Nažky slnečnice zbavíme oplodia a niekoľko olúpaných semien rozdrvíme v roztieračke. Drvinu spláchneme teplou destilovanou vodou do skúmavky a dobre pretrepeme. Potom pridáme alkoholový roztok Sudanu III a necháme stáť.

Pozorovanie a vysvetlenie

Vrstvička tuku na hladine je červeno sfarbená. Farbivo Sudan III sa rozpúšťa v alkohole, ale oveľa lepšie v tukoch, preto prejde do tukovej vrstvy a sfarbí ju.

Tuky sú triglyceridy vyšších mastných kyselín, z ktorých pre tvorbu tukov je najdôležitejšia kyselina palmitová, stearová a olejová. Keď v semenách prevláda kyselina olejová, sú tuky kvapalné (oleje). Lisovaním semien slnečnice sa získava slnečnicový olej, ktorý sa používa pri príprave pokrmov [1].

c) v orechoch

Pomôcky a chemikálie

Filtračný papier, 2 malé sklenené vaničky, kadička, nožnice, olúpané orechy, alkoholový roztok Sudanu III alebo mletá červená paprika.

Postup práce

Olúpané orechy roztlačíme medzi dvoma filtračnými papiermi. Zvyšky semien odstránime. Filtračný papier, na ktorom sa objavila mastná škvrna ponoríme do vaničky s nasýteným roztokom Sudanu III v etanole. Farbivo necháme asi 2 minúty pôsobiť. Potom papier v druhej vaničke premyjeme v etanole a opláchneme pod tečúcou vodou.

Pozorovanie a vysvetlenie

Mastná škvrna na papieri, ktorá vznikla roztlačením semien, sa Sudanom III zafarbila na červeno. Semená sú zásobárňou tukov, ktorý sa po roztlačení vpil do papiera. Mastná škvrna je viditeľná proti svetlu. Sudan III ako organické farbivo je lepšie rozpustný v tukoch ako v etanole, a preto olejová škvrna zostala zafarbená na červeno (Obr. 7).



Obr. 7 Dôkaz obsahu tukov v orechoch

d) v bunkách kvasiniek

Pomôcky a chemikálie

Kadička, potreby na mikroskopovanie, kvasnice, alkoholový roztok Sudanu III.

Postup práce

V malej kadičke pripravíme mliečne sfarbenú suspenziu kvasníc. Kvapku suspenzie preniesieme na podložné sklíčko a pridáme kvapku roztoku Sudanu III. Necháme pôsobiť niekoľko minút. Pripravíme mikroskopický preparát a pri vhodnom zafarbení kondenzora pozorujeme objektívom pri zväčšení 45 až 60-krát.

Pozorovanie a vysvetlenie

V bunkách kvasiniek nájdeme na červeno sfarbené kvapôčky. Červená farba dokazuje prítomnosť tuku.

Kvasinka je výborný pokusný objekt. V 100 g kvasiniek je asi 1,3 g tuku [1].

Experiment 2: Rozpustnosť tukov

Pomôcky a chemikálie

4 skúmavky, stojan na skúmavky, tvrdá ceruzka, roztok etylalkoholu ($w = 70\%$), dietyléter, benzín, voda, jedlý olej.

Postup práce

Skúmavky označíme ceruzkou číslami I - IV. Do každej skúmavky dáme $0,5\text{ cm}^3$ jedlého oleja. Potom do skúmavky I pridáme 5 cm^3 vody, do skúmavky II 5 cm^3 etylalkoholu, do skúmavky III 5 cm^3 dietyléteri a do skúmavky IV 5 cm^3 benzínu. Obsah všetkých skúmaviek premiešame. Pozorujeme, či sa olej rozpúšťa.

Pozorovanie a vysvetlenie

Olej sa rozpúšťa pri premiešaní v dietyléteri a v benzíne. Vo vode sa nerozpúšťa vôbec, v etylalkohole je rozpustný iba za horúca. Olej sa pri premiešaní v týchto rozpúšťadlách iba rozptýli na kvapôčky (emulguje), potom sa však od vody opäť oddelí [1].

Experiment 3 : Zmeny pri žltnutí tukov

Pomôcky a chemikálie

2 skúmavky, pipeta, nôž, sklená tyčinka, váhy, kadička, elektrická platnička, modrý lakmusový papierik, strička, čerstvé a zožltnuté staré maslo, technický lieh.

Postup práce

V 5 cm^3 technického liehu rozpustíme v jednej skúmavke 1 g čerstvého masla a v druhej skúmavke 1 g zožltnutého staršieho masla. Skúmavky vložíme do vodného kúpeľa. Do každej skúmavky zasunieme vlhký lakmusový papierik tak, aby bol ponorený do roztoku v skúmavke.

Pozorovanie a vysvetlenie

Po chvíli sledujeme zmenu farby modrého lakmusového papierika, ponoreného do druhej skúmavky s rozpusteným zožltnutým maslom, na červenú.

Tuky ako estery vyšších karboxylových kyselín pôsobením tepla, svetla, za prítomnosti vody, vzduchu a mikroorganizmov žltnú. Nastáva proces ich oxidácie vzdušným kyslíkom na dvojitéch väzbách nenasýtených karboxylových kyselín, pričom sa štiepia

uhl'ovodíkové reťazce. Takto vznikajú rôzne aldehydy, ketóny a nižšie karboxylové kyseliny, ktoré spôsobujú zmenu farby indikátora [1].

Experiment 4 : Stanovenie množstva vody v tukoch

Princíp

Voda sa v tukoch stanovuje ako sušina (vlhkosť). Vlhkosť sa stanoví ako úbytok na váhe sušením vzorky pri 130 °C a odvážením zvyšku.

Pomôcky a chemikálie

Kadička, teplomer, sklenená tyčinka, pieskový kúpeľ, analytické váhy, exsikátor, vzorka - bravčová masť (príp. stužený tuk, maslo, olej).

Postup práce

Do suchej a odváženej kadičky navážime 20 g vzorky. Potom ju opatrne zahrejeme na pieskovom kúpeli za stáleho miešania tyčinkou, až sa prestanú vyvíjať bublinky odparovanej vody. Keď teplota vzorky dosiahne teplotu 125 °C, udržujeme ju ešte 5 min. v rozpätí 125 – 130 °C. Po vychladnutí v exsikátore vzorku v kadičke zväžíme a podľa nasledujúceho vzorca vypočítame množstvo vody:

$$v = \frac{b}{a} \cdot 100,$$

kde v = množstvo vody v percentách,

a = navážka vzorky v g,

b = úbytok na váhe v g.

Experiment 5 : Tuky v mlieku

Pomôcky a chemikálie

Skúmavka, stojan na skúmavky, držiak na skúmavky, liehový kahan, striekačka (10 cm³), nožnice, pipeta, zápalky, plnotučné mlieko, éter alebo etanol.

Postup práce

Skúmavku naplníme 5 cm³ plnotučného mlieka, na to navrstvíme 1 cm³ alkoholu a zmes zahrievame asi minútu. Po ochladení skúmavky vodou pridáme 4 cm³ éteru a silne pretrepeme. Počkáme, kým sa fázy opäť oddelia. Vrstvu éteru obsahujúcu tuk odsajeme striekačkou a nakvapkáme na filtračný papier.

Pozorovanie a vysvetlenie

Na filtračnom papieri ostane dobre viditeľná masťná škvrna. Tuky nachádzajúce sa v mlieku sú rozpustné v nepolárnych organických rozpúšťadlách. Na základe tejto vlastnosti ich možno izolovať [1].

Poznámka

Masťnú škvrnu na papieri môžeme zviditeľniť organickým farbivom Sudan III.

Experiment 6 : Extrakcia lipidov z vaječného žĺtku

Princíp

Lipidy nie sú rozpustné vo vode, ale rozpúšťajú sa v nepolárnych organických rozpúšťadlách. Z tkanív bohatých na vodu však väčšinou nie je možné extrahovať lipidy priamo (tzn. bez predchádzajúceho odvodnenia napr. acetónom). Výnimkou je zmiešané rozpúšťadlo alkohol – éter, ktoré možno použiť priamo. K hrubému deleniu lipidov môžeme využiť rozdiely ich rozpustnosti.

Pomôcky a chemikálie

Banka, vodný kúpeľ, lievnik, filtračný papier, dietyléter, acetón, zmes alkohol – éter (3 objemové diely etanolu a 1 diel dietyléteri), roztok KOH v etanole (w = 10 %).

Postup práce

Žĺtok dobre oddelíme od bielka a zalejeme ho 75 cm³ zmesou alkohol – éter (pracujeme v digestore, pozor na otvorený oheň!), necháme stáť asi 10 minút za občasného miešania. Prefiltrujeme cez papier navlhčený zmesou alkohol - éteru. Látku na filtri premyjeme ešte 25 cm³ zmesi alkohol - éteru. Filtrát odparíme na vodnom kúpeli, až zostane len olejovitá kvapalina. Ochladíme ju a za stáleho miešania pridávame 30 cm³ acetónu. Zráža sa lecitín. Zrazeninu odfiltrujeme a uchovávame v chladničke bez prístupu svetla. Filtrát (obsahuje neutrálne lipidy a cholesterol) odparíme na vodnom kúpeli do konzistencie pasty. Po vychladnutí pridáme 20 cm³ alkoholového roztoku KOH, zamiešame a na vodnom kúpeli zahrievame 30 minút. Necháme vychladnúť, potom pridáme 50 cm³ dietyléteri. Vyzrážané mydlo nerozpustné v éteri odfiltrujeme a z filtrátu, obsahujúceho cholesterol, odparíme éter na vodnom kúpeli. Produkty uchovávame chránené pred svetlom v chladničke.

Poznámky

Pokus je podľa potreby možné ukončiť napr. po získaní lipidového extraktu, po vyzrážaní lecitínu, alebo po zmydelnení lipidov. Popísaný postup umožňuje získanie rôznych typov lipidov. Pokus je vhodné urobiť ako demonštračný. Ako celok je popísaný pracovný postup vhodný iba pre skúsenejších pracovníkov. Je vhodný ako metóda získavania

biochemického materiálu. Vhodnou alternatívnou východiskovou surovinou je aj rozotrený žltok z natvrdo varených vajec, ktoré spracujeme úplne rovnakým postupom [1].

Experiment 7 : Extrakcia lipidov zo semien

Princíp

Zo suchých tkanív, ako sú semená, je možno lipidy extrahovať priamo nepolárnymi rozpúšťadlami. Po odparení rozpúšťadla zostáva na papieri po lipidoch priesvitná „mastná“ škvrna.

Pomôcky a chemikálie

Trečia miska, pipeta, filtračný papier, benzín a semená maku.

Postup práce

K 0,2 g semien maku, rozotrených v trecej miske, pridáme 0,5 cm³ benzínu a premiešame. Odoberieme niekoľko kvapiek extraktu a kvapneme ju na filtračný papier. Rozpúšťadlo necháme odpariť. Po odparení rozpúšťadla skontrolujeme filtračný papier, na ktorom pozorujeme „mastnú“ škvrnu.

Poznámky

Je možné použiť aj iné olejnaté semená (slnečnica, sezam). Prítomnosť tukov možno väčšinou dokázať aj bez extrakcie, dôkladným rozdrvením semien medzi dvoma vrstvami filtračného papiera [1].

Experiment 8 : Reakcia cholesterolu

Princíp

Cholesterol a ďalšie steroidy reagujú s acetanhydridom, kyselinou sírovou a s formaldehydom za vzniku farbených produktov. Chémia týchto reakcií je zložitá a doposiaľ nie celkom vysvetlená.

Pomôcky a chemikálie

Suché skúmavky, pipety s balónikom, koncentrovaná kyselina sírová H₂SO₄, acetanhydrid, roztok formaldehydu (1 objemový diel 40 % roztoku formaldehydu a 50 dielov koncentrovanej H₂SO₄), roztok cholesterolu (w = 1 %) v suchom chloroforme (možno vysušiť chloridom vápenatým).

Postup práce

a) Salkowského skúška

Do suchej skúmavky napipetujeme 1 cm³ chloroformového roztoku s obsahom cholesterolu. Opatrne podvrstváme 1 cm³ koncentrovanej kyseliny sírovej.

Chloroformová vrstva sa sfarbí na červeno. V chloroformovej vrstve sa prejavuje zelená fluorescencia, ktorú pozorujeme v dopadajúcom svetle.

b) Liebermannova – Buchardova reakcia

K 1 cm³ chloroformového roztoku cholesterolu v suchej skúmavke pridáme opatrne 1 cm³ acetanhydridu a po premiešaní a ochladiení 2 cm³ kyseliny sírovej. Po premiešaní pozorujeme zmenu farby od červenej cez modrú až na modrozelenú.

c) Formaldehydový test

K 2 cm³ roztoku formaldehydu v koncentrovanej kyseline sírovej pridáme rovnaký objem chloroformového roztoku cholesterolu. Chloroformová vrstva sa farbí na červeno. Chloroformovú vrstvu odsajeme. Vodná vrstva po pridaní 2 kvapiek acetanhydridu sa zafarbí do modra.

Poznámky

Pokus má demonštračný charakter. Reakcie sú veľmi citlivé na prítomnosť vody, ktorá ich ruší.

Bezpečnosť práce

Je nutné dodržiavať zásady bezpečnosti práce vzhľadom na nebezpečenstvo pri manipulácii s koncentrovanou kyselinou sírovou, acetanhydridom a pre narkotické účinky jedovatého chloroformu [1].

Experiment 9 : Olejová sopka

Pomôcky a chemikálie

Odparovacia miska, lyžička na chemikálie, 100 cm³ odmerná banka, veľká kadička, mletá červená paprika, pokrmový olej, saponát alebo mydlový roztok.

Postup práce

V porcelánovej odparovacej miske zmiešame olej s lyžičkou mletej červenej papriky. Množstvo oleja zvolíme podľa objemovej veľkosti banky, ktorú je potrebné úplne naplniť farebnou olejovou zmesou. Banku naplnenú farebnou zmesou ponoríme do kadičky so studenou vodou tak, aby hrdlo banky bolo aspoň 4 cm pod hladinou vody. Potom prikvapneme na povrch hladiny pár kvapiek saponátu.

Pozorovanie a vysvetlenie

Olej, ktorý je ľahší ako voda, pôsobením saponátu začne vystupovať na hladinu, čo vyzerá ako prúd sopečnej lávy. Mydlový



Obr. 8 Olejová sopka

roztok alebo saponát znižuje povrchové napätie na rozhraní vody a oleja. Olej má menšiu hustotu ako voda, ale napätie na rozhraní zabráni vyplávaniu oleja z banky ponorenej vo vode. Tento princíp sa využíva pri odstraňovaní nečistoty. Znížením povrchového napätia sa zmäča povrch nečistoty, čo umožňuje jej uvoľnenie do roztoku a tým aj jej odstránenie (Obr. 8).

Poznámka

Je dôležité, aby okraj banky bol minimálne 4 cm pod hladinou vody, pretože inak nie je pokus efektívny. Voda z chladničky má vyššie povrchové napätie, čím sa tiež zvyšuje efektívnosť pokusu. Je dôležité, aby menšia banka mala úzke hrdlo. Obe nádoby musia byť čisté. Banku môžeme nahradiť fľaškou od liekov z bieleho skla so zúženým hrdlom [1].

LITERATÚRA

- [1] GANAJOVÁ, M.: *100 Chemických experimentov s vybranými potravinami*. 1. vyd. Košice, 2010. 147 s. ISBN 978-80-89284-64-1.