



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską

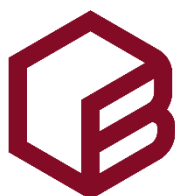


	Nr projektu	FERS.01.05-IP.08-0335/23
	Tytuł projektu	„STUDENCI HIPOKRATESA- kompleksowy program utworzenia i wdrożenia kierunku lekarskiego na Politechnice Bydgoskiej”
	Beneficjent:	Politechnika Bydgoska im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich

Projekt pt.: „STUDENCI HIPOKRATESA - kompleksowy program utworzenia i wdrożenia kierunku lekarskiego na Politechnice Bydgoskiej” w ramach programu Fundusze Europejskie dla Rozwoju Społecznego 2021-2027 współfinansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego Plus, nr umowy: FERS.01.05-IP.08-0335/23-00

INSTRUKCJE DO ĆWICZEŃ LABORATORYJNYCH Z BIOCHEMII

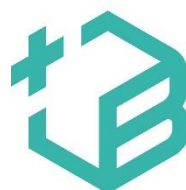
*dla kierunku lekarskiego
Politechniki Bydgoskiej
im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich*



**POLITECHNIKA
BYDGOSKA**
im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich



**POLITECHNIKA
BYDGOSKA**
Wydział Technologii
i Inżynierii Chemicznej



**POLITECHNIKA
BYDGOSKA**
Wydział Medyczny



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



LIPIDY



**POLITECHNIKA
BYDGOSKA**
im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich



**POLITECHNIKA
BYDGOSKA**
Wydział Technologii
i Inżynierii Chemicznej



**POLITECHNIKA
BYDGOSKA**
Wydział Medyczny



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



Zagadnienia

1. Definicja i klasyfikacja lipidów

- Co to są lipidy?
- Jakie grupy lipidów wyróżniamy? Budowa + struktura
- Rodzaje i budowa i funkcje lipoprotein

2. Kwasy tłuszczowe

- Czym charakteryzują się kwasy tłuszczowe nasycone i nienasycone? + przykłady
- Jakie pełnią funkcje w organizmach żywych?
- Synteza kwasów

3. Trójglicerydy (lipidy proste)

- Struktura trójglicerydów i ich rola energetyczna w organizmach.
Magazynowanie w komórkach

4. Fosfolipidy i ich rola w błonach komórkowych

- Budowa fosfolipidów i ich znaczenie w strukturze błon komórkowych.

5. Cholesterol i sterole

- Budowa cholesterolu i jego rola w organizmach.
- Rola w syntezie hormonów steroidowych.

6. Lipidy jako źródło energii

- Jak lipidy są wykorzystywane jako źródło energii w organizmach? Procesy trawienia, wchłaniania i transportu lipidów.



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



REAKCJE CHARAKTERYSTYCZNE DLA LIPIDÓW

Ćwiczenie 1. Wykrywanie glicerolu – próba akroleinowa

Zasada:

Pod wpływem wysokiej temperatury z kwaśnym siarczanem potasu (również na skutek wielokrotnego, naprzemiennego podgrzewania i ochładzania tłuszczu) glicerol odwadnia się i ulega przekształceniu w akroleinian – nienasycony aldehyd o bardzo charakterystycznym, drażniącym zapachu (w dużym stężeniu gaz wywołujący łzawienie). Akroleinę wykrywa się reakcją lustra srebrowego, gdyż będąc aldehydem wykazuje się właściwościami redukującymi.

Wykonanie ćwiczenia:

Przygotować 1 probówkę, do której napipetować kilka kropli (ok. 5) oleju. Następnie dodać szczyptę KHSO_4 . Próbę ogrzewać przez kilka minut. Po chwili zaczyna się wydzielać nieprzyjemny zapach akroleiny. Dodatkowo jej wykrycie umożliwia umieszczenie u wylotu probówki bibuły nasyconej amoniakalnym roztworem tlenku srebra. Wydzielająca się akroleina powoduje zaczerńnienie bibuły przez redukcję jonu srebrowego do srebra metalicznego.



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

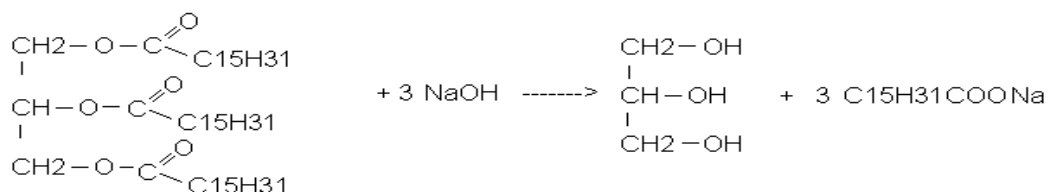
Dofinansowane przez
Unię Europejską



Ćwiczenie 2. Zmydlanie tłuszczów – reakcja uzyskania mydła

Zasada:

Lipidy ulegają reakcji hydrolizy pod wpływem oddziaływania czynników fizycznych (temperatury, pary wodnej), chemicznych i enzymatycznych. W utrzymujących się warunkach wysokiej temperatury (powyżej 100°C) z tłuszczu powstaje glicerol i wolne kwasy tłuszczowe. Gdy przeprowadzana jest hydroliza alkaliczna, oprócz glicerolu wytwarzane są także sole kwasów tłuszczowych (mydło). Jest to reakcja zmydlania. W jej wyniku tworzą się rozpuszczalne w wodzie mydła potasowe lub sodowe (oddziaływanie ługu potasowego lub sodowego), uwidaczniają się micelarne roztwory koloidalne. Natomiast mydła wapniowe, magnezowe lub borowe (sole metali dwuwartościowych) są mydłami nierozpuszczalnymi w wodzie (wytrącają się w postaci serowatego osadu). Ponadto reakcja zmydlania tłuszczu ługami jest reakcją nieodwracalną, doprowadzającą do całkowitej hydrolizy lipidów.



Ryc. 39. Reakcja zmydlania tłuszczu.

Wykonanie ćwiczenia:

Do porcelanowej parowniczkę napipetować 1,5 ml oleju (rzepakowego lub oliwy z oliwek). Wstawić parowniczkę na 10 minut do łaźni wodnej w celu podgrzania tłuszczu. Po upływie tego czasu, nadal trzymając parowniczkę w łaźni wodnej, dodać do parowniczkę 2,5 ml 30% roztworu NaOH oraz 1,5 ml etanolu. Od tego momentu intensywnie i stale mieszać (przez kilka – kilkanaście minut) aż do chwili utworzenia się jednolitej, gęstej masy (mydło). Otrzymane mydło przełożyć do zlewki, dodać do niej 75 ml wrzątku i wymieszać roztwór do całkowitego rozpuszczenia mydła. Roztwór mydła zachować do dalszych doświadczeń.



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



Ćwiczenie 3. Wysalanie mydła

Zasada:

Mydło jako struktura koloidowa, tworzy w wodnym roztworze micelle - do ich wnętrza zwrócone są łańcuchy hydrofobowe – węglowodorowe, natomiast na zewnątrz grupy polarne. W przypadku rozpuszczalników organicznych sytuacja jest zupełnie odwrotna. W wodnych roztworach grupy polarne usytuowane na powierzchni ulegają hydratacji, dzięki czemu są otoczone płaszczem wodnym (działającym ochronnie). Dodanie do roztworu elektrolitu, dużej ilości soli lub innej substancji odciągającej wodę wpływa na osłabienie struktury miceli (denaturacja miceli) i przyczynia się do wytrącenia cząsteczki koloidu (wysolenie koloidu mydła). Zjawisko to jest odwracalne – po dodaniu wody i zdekantowaniu roztworu soli osad mydła ulega ponownemu rozpuszczeniu.

Wykonanie ćwiczenia:

Przygotować 1 próbkę, do której napipetować 1 ml roztworu mydła (z wcześniejszego doświadczenia) i dodać kryształki chlorku sodu. Próbę dobrze wymieszać. Wytrąca się osad mydła. Zdecydowanym ruchem zlać część zawiesiny z nad osadu a do powstałego osadu dodać wody destylowanej i wymieszać. Mydło ponownie ulegnie rozpuszczeniu. Zanotować wynik reakcji.

Ćwiczenie 4. Otrzymywanie mydła nierozpuszczalnego

Zasada:

Mydła, w zależności od soli metalu wchodzącego w jego skład, można podzielić na rozpuszczalne i nierozpuszczalne w wodzie. Jeśli na roztwór mydła sodowego lub potasowego będzie działało się chlorkiem wapniowym, chlorkiem barowym lub octanem ołowianym zaczyna wytrącać się nierozpuszczalny osad mydła wapniowego, barowego lub ołowiowego. Mydło wapniowe i magnezowe tworzy po kontakcie z mydłem sodowym tzw. twardą wodę.

Wykonanie ćwiczenia:

Przygotować 3 próbki, do których napipetować po 1 ml roztworu mydła. Następnie do pierwszej próbki dodać 1 ml roztworu CaCl_2 , do drugiej 1 ml roztworu $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$, natomiast do trzeciej 1 ml roztworu BaCl_2 (roztwory 2%). Roztwór mętnieje lub może wytrącać się osad. Po zlaniu klarownego nadmiaru płynu dodać do prób wody destylowanej i wymieszać. Osad nie ulega rozpuszczeniu. Zanotować wynik reakcji i wyjaśnić jej mechanizm.



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



Ćwiczenie 5. Tworzenie emulsji tłuszczu w obecności emulgatora

Zasada:

Tłuszcz nie jest substancją rozpuszczalną w wodzie. W roztworze wodnym tworzy niemieszające się warstwy. Jeśli jednak do wody zostanie wprowadzony środek obniżający jej napięcie powierzchniowe (emulgator), to tłuszcz po wymieszaniu z nim będzie tworzył emulsję (roztwór koloidalny). Swoistym emulgatorem może być mydło, czy płyn do mycia naczyń – wykazujące się zdolnością do obniżania napięcia międzyfazowego (obniża je nawet o 20%).

Wykonanie ćwiczenia:

Przygotować 2 probówki, do których napipetować po 4 ml wody oraz 3-4 krople oleju. Do pierwszej probówki dodać 0,5 ml roztworu mydła. Wstrząsać zawartość obu probówek przez minimum 30 s. Odczekać kilka minut i zaobserwować, która z emulsji jest trwała, a która uległa rozproszeniu. Zanotować wynik reakcji i wyjaśnić jej mechanizm.

Ćwiczenie 6. Rozpuszczalność lipidów

Zasada:

W analizie jakościowej lipidów wykonuje się testy rozpuszczalności tłuszczów. Tłuszcz nie rozpuszcza się w wodzie. Dodanie do tłuszczu emulgatora powoduje powstanie na powierzchni emulsji (kropelki tłuszczu utrzymują się na powierzchni wody, lecz nie łączą się ze sobą).

Wykonanie ćwiczenia:

Przygotować 4 probówki. Do każdej z nich napipetować po kilka kropli oleju. Następnie do pierwszej probówki dodać 1 ml wody, do drugiej 1 ml alkoholu etylowego, do trzeciej 1 ml chloroformu, a do czwartej 1 ml acetonu. Próby wymieszać. Zaobserwować rozpuszczalność tłuszczu w poszczególnych rozpuszczalnikach. Zanotować wynik doświadczenia.



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



Ćwiczenie 7. Próba Kreisa na jełczenie aldehydowe

Zasada:

Tłuszcz ze względu na swoją estrową budowę wykazuje się określonym charakterem chemicznym. Dzięki takiej strukturze łatwo ulega hydrolizie pod wpływem lipaz, pary wodnej, jonów wodorowych, światła, wilgoci, drobnoustrojów i powietrza. Czynniki te wywołują proces jełczenia (tlen zostaje przyłączony do podwójnych wiązań, tworzy się nadtlenek), podczas którego tłuszcz nabiera nieprzyjemnego smaku i zapachu. Na dalszym etapie dochodzi do rozerwania łańcucha, w wyniku czego powstają aldehydy (z wyższych kwasów tłuszczowych) lub ketony (z niższych kwasów tłuszczowych).

Wykonanie ćwiczenia:

Przygotować dwie próbówki. Do pierwszej napipetować 2 ml świeżego oleju, a do drugiej 2 ml zjełczałego oleju. Następnie do obu próbówek dodać 2 ml stężonego HCl i wytrząsać na worteksie przez 1 minutę. Do obu prób dodać po 2 ml 0,1% roztworu rezorcyny w benzenie. Próby energicznie wstrząsnąć i pozostawić aż do momentu, w którym warstwy zaczną się od siebie rozdzielać. Zabarwienie czerwono-fioletowe wskazuje na jełczenie aldehydowe. Zanotować wynik doświadczenia.



WYZNACZANIE LICZB TŁUSZCZOWYCH

Ćwiczenie 8. Liczba kwasowa

Zasada:

Oznaczenie liczby kwasowej polega na miareczkowaniu roztworu tłuszczu w rozpuszczalniku przy udziale mianowanego roztworu ługu potasowego. Wówczas zobojętnieniu ulegają tylko wolne kwasy tłuszczowe zawarte w tłuszczu.

Do rozpuszczenia naważki tłuszczu stosuje się mieszaninę etanolu z benzenem lub eterem etylowym. W celu przyspieszenia rozpuszczania tłuszczu stałego, można przekształcić go w ciecz przed dodaniem rozpuszczalnika (w gorącej łaźni wodnej).

Miareczkowanie prowadzi się względem fenoloftaleiny dla tłuszczów w kolorze jasnym lub tymoloftaleiny dla tłuszczu o ciemnej barwie.

Wykonanie ćwiczenia:

Oznaczenie przeprowadzić dla dwóch rodzajów tłuszczów (2 naważki każdego tłuszczu).

Odważyć 2 g tłuszczu i umieścić go w kolbie stożkowej o objętości 250 ml. Dodać do kolby 20 ml rozpuszczalnika i rozpuścić tłuszcz wykonując kolbą koliste ruchy aż do rozpuszczenia naważki. Po dodaniu wskaźnika fenoloftaleina) miareczkować roztwór 0,1M roztworem KOH do uzyskania utrzymującego się przez 1 minutę zabarwienia lekko różowego. Oznaczyć ilość ml KOH wykorzystanych do miareczkowania objętości rozpuszczalnika (próba ślepa).

Liczbę kwasową oblicza się z poniższego wzoru:

$$LK = 5,611 \frac{(a-b)f}{g}, \text{ mgKOH/g}$$

gdzie:

5,611 liczba mg KOH zawarta w 1 ml 0,1M roztworu

a – ml 0,1M KOH zużyty do miareczkowania badanej próby

b – ml 0,1M KOH zużyty do miareczkowania rozpuszczalnika (próba ślepa)

g – naważka tłuszczu w gramach

f – faktor roztworu KOH.

Zapisać obliczenia i wynik reakcji. Wyciągnąć wnioski.



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



Ćwiczenie 9. Liczba zmydlania

Zasada:

Doświadczenie polega na zmydleniu tłuszczu za pośrednictwem alkoholowego roztworu ługu potasowego przez ogrzewanie go we wrzącej łaźni wodnej w danym czasie.

Nadmiar ługu odmiareczkowuje się przy pomocy mianowanego roztworu kwasu solnego.

Szybkość reakcji jest uzależniona od rodzaju użytego alkoholu (niższa dla metanolu, wyższa dla etanolu, najwyższa dla propanolu)

Wykonanie ćwiczenia:

Oznaczenie wykonać dwukrotnie dla każdego użytego tłuszczu. Odważyć 0,5g badanego tłuszczu. Naważkę przenieść do kolby okrągłodennej o pojemności 150 ml. Dodać do niej 25 ml 0,5M alkoholowego roztworu KOH (uważając by nie dotknąć pipetą ścian kolby). Zawartość kolby ogrzewać w łaźni wodnej pod chłodnicą zwrotną i utrzymywać w warunkach wrzenia przez 30 minut. Po upływie tego czasu dodać 1 ml fenoloftaleiny i odmiareczkować nadmiar ługu 0,5M roztworem kwasu solnego. Miano użytego ługu oznaczane jest w próbie ślepej, ogrzewając przez 30 minut 25 ml 0,5M alkoholowego roztworu KOH i miareczkując go 0,5M HCl.

Liczbę zmydlania oblicza się ze wzoru:

$$LZ = 28,055 \frac{(a-b)f}{g}, \text{ mgKOH/g}$$

gdzie:

28,055 liczba mg KOH zawarta w 1 ml 0,5M roztworu

a – ml 0,5M HCl zużyty do miareczkowania próby kontrolnej

b – ml 0,5M HCl zużyty do miareczkowania próby badanej

g – naważka tłuszczu w gramach

f – faktor roztworu HCl.

Zapisać obliczenia i wynik reakcji. Wyciągnąć wnioski.