Міністерство освіти та науки України

Волинський державний університет імені Лесі Українки

Хімічний факультет

Кафедра органічної

та аналітичної хімії

УДК 547 . 915

Виділення та ідентифікація ліпідів з насіння сосни звичайної (Pinus silvestris L.)

Випускна робота

студентки 4 курсу

Сіміцької Ганни Василівни

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ ­­­­

Науковий керівник: доц. К. б. Н. ДемчукВ.В.

До захисту на Державній екзаменаційній комісії \_

Завідувач кафедри: доц. К. х. Н. Проц Д. І.

Скеровується на рецензію до ­­­­\_\_\_\_\_\_

Декан факультету: доц. К. б. Н. Демчук В. В.

Луцьк-2001

РЕФЕРАТ

У даній роботі зроблено літературний огляд ліпідів: класифікація, добування, біологічна роль. Дано характеристику методів дослідження. Визначено вміст ліпідів у насінні сосни звиичайної і проведено розділення фосфоліпідів методом ТШХ.

**REPORT**

In the given work a literary review, concerning general information about lipids is made. The methods of investigation are characterized. The contents of lipids in the seeds of pine are defined, phospholipids in the seeds are selected and identified.

**Зміст**

сторінка

Перелік умовних позначень і скорочень……………..……….……………4

ВСТУП……………………………………………………………..5

РОЗДІЛ 1. ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД

* 1. Біологічна характеристика сосни звичайної…..……………………6

1.2 Ліпіди….…………………………………………………………………7

1.2.1. Загальна характеристика ліпідів..………………………………7

1.2.2 Класифікація ліпідів……… ………………………….. ………..8

1.2.2.1. Прості ліпіди……………………………………………..8

1.2.2.2. Складні ліпіди…………………………………………..12

1.2.3. Біологічна роль ліпідів в організмі……………………………15

РОЗДІЛ 2. ОБГРУНТУВАННЯ НАПРЯМКУ

ДОСЛІДЖЕННЯ…...………………………………..17

РОЗДІЛ 3. ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДІВ

ДОСЛІДЖЕННЯ…………………………………………18

3.1. Визначення вмісту загальних ліпідів у біологічному матеріалі...….18

3.2. Визначення вмісту загальних ліпідів в тканинах з допомогою

апаратуСокслета……………………………………………………....18

3.3. Розділення ліпідів на фракції методом ТШХ……………..19

РОЗДІЛ 4. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА……………...20

4.1.Визначення вмісту ліпідів в насінні сосни звичайної……..20

4.2.Розділення фосфоліпідів методом ТШХ……………………………..21

РОЗДІЛ 5. ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

ДОСЛІДЖЕННЯ………..……………….…………..22

ВИСНОВКИ………………………….…………………………..23

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ……..…………………24

ДОДАТОК А……………………………………..………………26

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ І СКОРОЧЕНЬ

грец. – грецький

ТШХ – тонкошарова хроматографія

год. – година

мл. – мілілітр

теор. – теоретичний

експ. – експериментальний

°С – градус Цельсія

абс.- сух. –абсолютно-сухий

пов.- сух. –повітряно-сухий

хв. – хвилини

см. – сантиметр

**Вступ**

Ліпіди (грец.lipos-жир) — жири і жироподібні речовини, органічні сполуки рослинного і тваринного походження, різні за складом, але близькі за фізико­-хімічними властивостями. Ліпіди нерозчинні у воді, добре розчиняються в органічних розчинниках. До ліпідів відносять жири, віск, фосфатиди, стерини та стероїди [1].

Ліпіди, які належать до важливих у біологічному відношенні речовин, входять до складу насіння сосни звичайної. Ліпіди виділяють з біологічних джерел органічними розчинниками, а індивідуальне розділення проводять хроматографічними методами. Ліпіди мають широке практичне застосування не тільки в медицині, але й як продукти харчування та в інших різних галузях промисловості [2].

**РОЗДІЛ 1. ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД.**

* 1. **. Біологічна характеристика сосни звичайної.**

Сосна звичайна (Pinus silvestris L.) – відоме дерево, поширене по всій території. В Україні ботаніки виділяють тепер 17 видів цього роду. Найбільш поширена з них сосна звичайна — вічнозелене дерево до 50 м заввишки, з прямим стовбуром і округлою пірамідальною кроною. Кора у старих дерев червонувато-бура, з тріщинами, легко відшаровується, на гілках жовтувата, лущиться. Листки (голки) хвої сизо-зелені, жорсткі, розміщені попарно (рідше по 3), гладенькі, завдовжки 5—7см. з внутрішньої сторони плоскі із зовнішньої — випуклі, виростають фактично з маленьких видозмінно-вкорочених пагонів. Чоловічі квіти в колосках, що численно колосовидне скупчені при основі пагонів поточного року, згодом сірчасто-жовті складаються з багатьох лущатих тичинок, а ці несуть по 2 пиляки з нижньої сторони. Жіночі колоски розміщені по 1—3 на кінцях пагонів, складаються з покривних і насіннєвих лусок. У пазухах останніх — по2 насінні зачатки. Шишки формуються з жіночих колосків. Вони яйцевидно-конічні, молоді—зелені, зрілі—жовтувато-сірі, з здерев’янілими щитками — насіннєвими лусками. Насіння дрібне, з крилатою летючкою. Цвіте (пилить) сосна звичайна в VI—VII, а насіння дозріває в шишках на другий-третій рік[3].

В залежності від місцезростання утворились (пристосувались) різні форми: болотна, крейдяна та інші, що їх декотрі ботаніки зараховують до окремих видів чи підвидів. У лісах росте суцільно або в змішаних сукупностях дерев, приміром, з березою, дубом тощо.

Сосна *—* це дарований природою, еволюцією життя на Землі санітар повітря, носій фітонцидів у цілісності своїй і по кожному її органу зокрема. Це — комора неперевершених ліків, не кажучи вже про застосування у будівництві, хімічній промисловості. Народна емпірика й наука не обійшли її своєю увагою і повсякчас знаходять у ній нові можливості використання. Згадаємо хоча б дивовижну мікроатмосферу яку створює сосна довкруги місця, де росте. З медичною метою використовують хвою (листки), бруньки, шишки, кору, пилок, навіть деревину; продукти первинної та вторинної переробки: смолу, живицю, скипидар, каніфоль, вугілля; фракції різних способів перегонки сировини: ефірні олії, а з них різні компоненти (пінен, карен, терпінокол), численні кислоти тощо.

Біохімічний склад органів і продуктів сосни.

Хвоя: смола — 7—12 %, вітамін С— 0,1—1,3 %, найбільше його в дво і трьохрічній хвої взимку та ранньою весною; дубильні речовини—до 5%, ефірна олія— 0,13—1,3 %, каротин, антоціани (і в корі), токоферол, ергостерин, мінеральні солі (кальцію, фосфору, заліза, марганцю, цинку, кобальту,нікелю та інших).

Бруньки: вітамін С, ефірна олія — до 0,36 %, дубильні речовини, смола, пініпікрин, рутин , каротин, вітаміни В2 і К.

Вміст усіх цих речовин залежить від віку дерева, бонітету, пори року[4].

**1.2.Ліпіди**

**1.2.1.Загальна характеристика ліпідів**

Ліпіди (жири і жироподібні речовини) разом з білками і вуглеводами становлять основну масу органічних речовин організму. Вони є складовими частинами клітинних оболонок та мембранних систем клітини і беруть участь в їх проникності. Жири захищають внутрішні органи від механічних пошкоджень, є важливим джерелом енергії для організму та субстратом для синтезу цілого ряду біологічно важливих речовин.

Ліпіди об’єднують велику групу різних за хімічною природою органічних речовин, які мають деякі спільні фізико-хімічні властивості. Однією з таких спільних властивостей ліпідів є нерозчинність їх у воді і здатність добре розчинятися в органічних розчинниках — спирті, ефірі, хлороформі, ацетоні, бензолі та деяких інших [5].

**1.2.2. Класифікація ліпідів.**

За хімічним складом та фізико-хімічними властивостями ліпіди поділяють на три групи: прості, складні і похідні ліпідів. До простих ліпідів відносять ліпіди, які побудовані з залишків спиртів і вищих жирних кислот. Найпоширенішими з цієї групи ліпідів є нейтральні жири (гліцериди), стериди і воски.

Група складних ліпідів характеризується наявністю в Їхній молекулі крім спиртів і вищих жирних кислот фосфорної або сірчаної кислот, азотистих речовин, вуглеводів та деяких інших компонентів. Основними представниками цієї групи ліпідів є фосфоліпіди, гліколіпіди

До групи похідних ліпідів відносять каротини, окремі жиророзчинні вітаміни, жирні кислоти, вищі спирти [6].

**1.2.2.1.Прості ліпіди**

**Нейтральні жири (гліцериди**) — це складні ефіри трьохатомного спирту гліцерину і жирних кислот. Якщо в гліцерині всі три спиртові групи етерифіковані жирними кислотами, то такі сполуки називають тригліцеридами, якщо дві групи —дигліцеридами і якщо етерифікована одна спиртова група –моногліцеридами



Моногліцерид дигліцерид тригліцерид

Вищі жирні кислоти в жирах представлені головним чином насиченими і ненасиченими ациклічними карбоновими кислотами. В окремих випадках в складі жирів зустрічаються циклічні карбонові кислоти та оксикислоти. Більшість карбонових кислот, що входять до складу жирів, мають парне число вуглецевих атомів:

Насичені жирні кислоти

СН3 — (CH)2 — COOH— масляна

CH3 — (CH2)4 — СООН — капронова

CH3 — (CH2)6 — СООН — каприлова

CH3 — (CH2)8 — СООН — капринова

CH3 — (CH2)10 — СООН — лауринова

СН3 — (CH2)12 — СООН — міристинова

CH3 — (CH2)14 — СООН —пальмітинова

CH3 — (CH2)16 — СООН — стеаринова

СНз — (CH2)18 — СООН —арахідонова

CH3 — (CH2)20 — СООН —бегенова

СНз — (CH2)22 — СООН — лігноцеринова

Ненасичені жирні кислоти

СН— СН == CН—СООН — кротонова

СН—(СН) — СН == СН — (СН) — СООН — пальмітоолеїнова  
СН— (СН) — СН == СН — (СН) — СООН — олеїнова  
СН— (СН) — СН == СН — (СН) — СООН — ерукова  
СН— (СН) — СН == СН—(СН) —СООН — нервонова  
СН— (СН)— СН == СН — СН —СН == СН — (СН) — СООН —лінолева

СН— СН—СН==СН==СН— СН—СН==СН— СН— СН— (СН) —СООН — ліноленова  
СН— (СН)—(СН==СН—СН)—(СН==СН—СН)—СОOН — арахідонова [7].

Жирні кислоти відрізняються між собою температурою плавлення і здатністю розчинятися у воді й органічних розчинниках. Збільшення числа вуглецевих атомів у молекулахнасичених жирних кислот супроводжується пІдвищенням їх температури плавлення. Збільшення числа подвійних зв’язків у молекулах ненасичених жирних кислот призводить до зниження їх температури плавлення. Жирні кислоти з довгим вуглецевим ланцюгом практично не розчинні у воді. Їх натрієві і калієві солі утворюють у воді міцели.

Деякі ненасичені жирні кислоти не синтезуються в організмі людини і тварин або утворюються з недостатній кількості. Тому Їх називають незамінними. До таких жирних кислот відносять лінолеву, ліноленову, арахідонову та деякі інші вищі ненасичені жирні кислоти. Основ ним джерелом поповнення ними організму людини є лляна, конопляна, кукурудзяна та соняшникова олія. Ці рослинні жири містять переважно лінолеву і ліноленову кислоти. Вершкове масло багате на арахідонову кислоту. Ненасичених жирних кислот в організмі зумовлює припинення росту молодих тварин, викликає захворювання шкіри до складу нейтральних жирів входять жирні кислоти з різним числом вуглецевих атомів і різним ступенем насиченості. Жирні кислоти значною мірою визначають фізичні властивості жирів. Так, наприклад, якщо в складі тригліцеридів переважають насичені (тверді) жирні кислоти, то такі жири матимуть тверду консистенцію і високу температуру плавлення. Якщо в складі тригліцеридів переважатимуть ненасичені жирні кислоти, вони матимуть низьку температуру плавлення і перебуватимуть у рідкому стані. В організмах людини і тварин жири нагромаджуються головним чином з підшкірній жировій клітковині. Це так звані резервні (запасні) жири[8].

**Стериди.** Це складні ефіри стеринів і вищих жирних кислот. Стерини, або стероли, похідні циклопентапергідрофенантрену. Останнє можна розглядати як продукт конденсації гідрованого фенантрену і циклопентану;



циклопентапергідрофенантрен

# Основним представником стеринів є холестерин

Холестерин 

який є ненасиченим одноатомним циклічним спиртом. На зовнішній вигляд—це біла кристалічна речовина, яка розчиняється лише в органічних розчинниках. Із жирними кислотами холестерин утворює складні ефіри — холестерид. Вони мають таку будову.

холестерид (ефір холестерину)

Із вищих жирних кислот, виявлених у складі стеридів є переважно пальмітинова, стеаринова та олеїнова кислоти. В організмах людини і тварин кількість холестерину, яка етерифікова нажирними кислотами, коливається в межах 10—20%.більша частина холестерину з організмі існує у вільному (неетерифікованому) стані.

 У шкірі людини і тварин виявлено гідровану форму холестерину — 7-дегідрохолестерин

7-дегідрохолестерин

Стерини є основою для утворення в організмі біологічно активних сполук — жовчних кислот, статевих гормонів, гормонів кори надниркових залоз та вітамінів групи D.

Основна кількість стеринів і стеридів утворює в організмі комплекси з білками [7].

**Воски.** Це складні ефіри вищих спиртів і вищих жирних кислот. За фізико-хімічними властивостями воски близькі до жирів. Вони більш стійкі проти дії світла, окислювачів, нагрівання, важче піддаються гідролізу.

Природні воски, крім складних ефірів, містять певну кількість вільних вищих спиртів і вищих жирних кислот, а також невелику кількість вуглеводів, барвників та пахучих речовин. Загальна кількість цих домішок може досягати 50%.

Розрізняють воски тваринного і рослинного походження. До першої групи восків відносять ланолін, спермацет і бджолиний віск. Представником рослинних восків може бути карнаубський віск. Рослинні воски відіграють важливу захисну роль, покриваючи листя і плоди тонким шаром [9].

**1.2.2.2.Складні ліпіди**

Складні ліпіди мають дуже важливе значення в життєдіяльності організму. Вони беруть безпосередню участь у побудові клітинних структур і в біохімічних процесах. У тканинах і органах складні ліпіди містяться в точно визначених кількостях, їх вміст у клітинах не змінюється навіть при голодуванні [10].

Складні ліпіди часто називають ліпоїдами. Вони належать до цитоплазматичних ліпідів.

**Фосфоліпіди (фосфатиди).** Характерною особливістю цієї групи ліпідів є наявність в їх молекулах залишків фосфорної кислоти. Важливими представниками фосфоліпідів є фосфатидилхоліни, фосфатидилетаноламіни, плазмологени, фосфатидилінозити, сфінгомієліни.

**Фосфатидилхоліни (холінфосфатиди, лецитини).** До складу фосфатидихолініввходять гліцерин, два залишки молекул вищих жирних

кислот, залишок фосфорної кислоти і холін:

Фосфатидилхолін ( лецитини )

В утворенні молекул фосфатидихолінів беруть участь як насичені, так і ненасичені вищі жирні кислоти. В більшості випадків до складу лецитинів входить один залишок насиченої та один залишок ненасиченої жирних кислот [11].

**Фосфатидилетаноламіни (коламінфосфатиди, кефаліни).** Ця група Фосфоліпідів побудована за тим самим принципом, що й фосфатидихоліни. Відмінність їх полягає лише в тому, що до складу фосфатидилетаноламінів замість холіну входить інша азотиста основа-коламін.

коламін

Фосфатидилетаноламіни містяться в тих самих органах і тканинах, що й лецитини. Вони досить тісно пов’язані між собою з процесі обміну і є важливими ліпідними компонентами клітинних мембран [7].

В молекулах фосфатидилсеринів азотистою основою є залишок амінокислоти серину.

Фосфатидилсерини(серинфосфоліпіди) — менш поширені, ніж попередні дві групи фосфоліпідів. Вони відіграють важливу роль у синтезі фосфатидилетаноламінів. Між лецитинами, кефалінами і серинфосфоліпідами існує генетичний зв’язок. Ці групи фосфоліпідів відрізняються між собою лише азотистими основами і в результаті їх взаємоперетворення вони можуть переходити одна з одну.

**Плазмалогени (ацетальфосфатиди).** Ці речовини за своєю будовою близькі до фосфатидилхолінів і фосфатидилколамінів. Відрізняються від них тим, що в їх складі замість однієї з вищих жирних кислот з гідроксильною групою гліцерину сполучається альдегід вищої жирної кислоти.



плазмогени

Сполуки, що утворюються в результаті взаємодії альдегідів із спиртами, називаються ацеталями, тому група фосфоліпідів має назву ацетальфосфатидів. Містяться вони переважно в складі нервової м’язової тканин разом з кефалінами.

**Фосфатидилінозити (інозитфосфоліпіди).** Ця група фосфоліпідів характеризується наявністю в їх складі шестиатомного циклічного спирту інозиту. Розрізняють моно- і дифосфатидилінозити:

монофосфатидилінозити

Фосфатидилінозити досить поширені в живій природі. Вони є в організмах людини, тварин і рослин. Особливо багато їх у складі нервової тканини.

**Кардіоліпіни.** Фосфоліпіди цієї групи побудовані з трьох залишків гліцерину,. Чотирьох залишків вищих жирних кислот і двох залишків фосфорної кислоти:

кардіоліпіни

Кардіоліпіни є важливою складовою частиною ліпопротеїдів мембран мітохондрій. Вважають, що вони відіграють важливу роль у процесах перенесення електронів, в окислювальному фосфорилюванні[7].

**Сфінгомієліни.** Група фосфоліпідів, яка на відміну від попередніх груп, містить не трьох-, а двохатомний спирт сфінгозин, що зв’язується пептидним зв’язком з вищою жирною кислотою і ефірним зв’язком з фосфорною кислотою. Остання зв’язується з азотистою основою — холіном.

Сфінгомієліни відрізняються один від одного за хімічним складом і будовою вищої жирної кислоти. До їх складу часто входять пальмітинова, стеаринова, лігноцеринова, нервонова та інші кислоти. Багато сфінгомієлінів у нервовій тканині. Вони складають основу мієлінових оболонок нервових волокон[8].

**1.2.3.Біологічна роль ліпідів в організмі.**

Ліпіди, як і білки, вуглеводи та інші речовини, відіграють в організмі важливу біологічну роль. Вона насамперед визначається тим, що ці речовини характеризуються комплексом своєрідних фізико-хімічних властивостей.

В організмах людини і тварин ліпіди входять до складу всіх клітин. Однак розподілені вони між різними органами і тканинами нерівномірно і кількість різних груп ліпідів у них також неоднакова [12].

Значна частина ліпідів входить до складу клітин організму як пластичний матеріал. Вони утворюють в основному комплекси з білками (ліпопротеїди), вуглеводами (гліколіпіди) та деякими іншими речовинами. Такі комплекси і становлять основу структури клітин і тканин організму. Значна кількість ліпопротеїдних комплексів входить до складу клітинних мембран та мітоходрій, в яких проходять важливі метаболічні процеси—фосфорилююче та вільне окислення. Ліпіди, що входять до складу мембран, беруть безпосередню участь у процесах активного транспорту крізь мембрани молекул та іонів, специфічної рецепції па поверхні клітин, передачі нервових імпульсів тощо. Оскільки клітинні мембрани є важливими регуляторами багатьох біохімічних процесів, то зміна структури, складу та орієнтації мембранних ліпідів викликає значні порушення клітинного метаболізму.

Ліпіди з організмі виконують важливу енергетичну функцію. За рахунок жирів їжі з середньому на 25—35 ° задовольняється добова потреба людини в енергії.

Ліпіди виконують важливі механічну і тіермоізоляційну функції. Вважають, що доросла людина залежно від умов зовнішнього середовища і виду трудової діяльності щодобово повинна одержувати 8—10 г фосфоліпідів, 8—15 ненасичених жирних кислот і 0.3—0,5 г холестерину. Для забезпечення збалансованості харчового раціону необхідно також підтримувати належне співвідношення між білками, ліпідами і вуглеводами [7].

## РОЗДІЛ 2

**Обговорення напрямку дослідження**

На основі літературного огляду, ми бачимо, що сосна звичайна є головгою лісоутворюючою породою на Волині. І тому одним із найважливіших завдань лісового господарства є створення нових високопродуктивних стійких насаджень.

Ми використовуючи методи хімії отримуємо результати про вміст ліпідів в насінні сосни звичайної, які складають запас поживних речовин і виконують структурну та інші функції в клітині.

Знаючи вміст поживних речовин, передбачаємо сприятливі грунтово-кліматичні та гідрологічні умови для вирощування сосни звичайної і тим самим, підвищуємо продуктивність та стійкість насаджень, покращуємо їх якісну структуру. Насіння проходить перевірку в конкретних лісорослинних умовах з метою встановлення норми реакції цих форм на умови середовища.І таким чином визначаються райони його використання [13].

**РОЗДІЛ 3**

**Характеристика методів дослідження**

**3.1. Визначення вмісту загальних ліпідів**

Найбільш простим методом визначення загальних ліпідів в тканинах є метод настоювання наважок тканини в хлороформ-метанольній суміші. За різницею мас зразка до і після екстракції знаходять процентний вміст ліпідів. Визначення ліпідів можна проводити в абсолютно-сухому чи повітряно-сухому матеріалі. При використанні повітряно-сухого матеріалу паралельно із визначенням ліпідів визначають вміст води, щоб зробити розрахунки на абсолютно-суху речовину. Для одержання надійних результатів роблять два паралельних визначення.

1,0-1,5 г. Насіння сосни звичайної зважують на аптечних терезах, розтирають у ступці, потім переносять у висушені і зважені на аналітичних терезах пакети із фільтрувального паперу. Зважують матеріал разом із пакетом і по різниці між одержаною масою і масою порожнього пакету визначають масу наважки. Пакет із наважкою вкладають в пакет більшого розміру і поміщають в конічну колбу, додають 35-40 мл. Метанолу і потім доливають 35-40 мл. хлороформу. Вміст колби перемішують і залишають в темному місці.

Пакет із обезжиреним матеріалом промивають і сушать в термостаті при 100°С протягом 2,5 год. , після чого зважують.

Визначення вмісту води проводять у повітряно-сухому матеріалі паралельно із обезжиренням. Матеріал поміщають у бюкс, сушать і за різницею мас б’юкса до і після просушення визначають вміст води[14].

**3.2.Визначення вмісту загальних ліпідів в тканинах за допомогою апарату Сокслету**

Метод заключається в неперервній екстракції сумарних ліпідів з висушеного матеріалу з подальшим визначенням різниці мас зразка до і після екстракції.

Досліджуваний зразок, висушений і подрібнений, поміщають в пакет з фільтрувального паперу, який опускають в екстрактор апарату Сокслета. Екстрактор заповнюють ефіром на 1/5 об’єму. Колбу поміщають в водяну баню, і пропустивши воду в холодильник, нагрівають.

Після нагрівання ефір, який містить жири, стікає в колбу. Процес повторюють до повного виділення жиру із зразка.

Кількість загальних ліпідів визначають за різницею мас пакета до і після екстракції [15].

**3.3.Розділення ліпідів на фракції методом ТШХ**

Для розділення ліпідів широко використовують ТШХ. Метод базується на тому, що ліпідний екстракт наносять на спеціально приготовлені пластинки з шаром силікагелю або Silufol пластинки. Розділення проводять в підібраній системі розчинників, в спеціальних камерах. Проявляють хроматограми концентрованою сульфатною кислотою або парами йоду. Плями обводять і розраховують Rf кожної і порівнюють з теоретичним значенням Rf.

В якості рухомої фази при ТШХ ліпідів використовують суміш хлороформу, метанолу і води у співвідношенні 65:25:4 [16].

**РОЗДІЛ 4**

**Експериментальна частина**

**4.1.Визначення вмісту ліпідів в насінні сосни звичайної**

1,5 насіння сосни звичайної зважили на аналітичних терезах, розтерли в ступці, потім перенесли в зважені пакети. Зважили матеріал разом з пакетом і по різниці між одержаною масою і масою порожнього пакету визначила масу наважки. Пакет з насінням помістила в конічну колбу на 100 мл., залила 40 мл. метанолу, а потім долила 40 мл. хлороформу. Вміст колби перемішала, закрила пробкою та залишила в темному місці на тиждень.

Через тиждень пакет з обезжиреним матеріалом вийняла з колби, промила три рази хлороформом, помістила в кристалізатор і поставила в витяжну шафу для випаровування розчинника. Після цього просушила протягом 2,5 год. При 105°С.

Визначення вмісту води в повітряно-сухому біологічному матеріалі проводила паралельно із обезжиренням. В сухий, попередньо зважений б’юкс помістила 1 г. Насіння сосни звичайної, і знову зважила. Потім б’юкс поставила на 4 год. В термостат при 105°С. Б’юкс перенесла в ексикатор для охолодження, після чого знову повторила висушування на 2 год. І охолодження. Розрахунок процентного вмісту води провела за формулою:



Результати роботи по визначенню вмісту води занесла в таблицю.

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Маса порожнього б’юкса, г | Маса б’юкса, з наважкою,г | Наважка,г | Маса б’юкса  з важкою після 1 висуш., г | Маса наважки після ост. Висуш., г | Вміст води,% |
| 4,3650 | 5,8715 | 1,5065 | 5,6663 | 5,6660 | 3,5 |

Обчислення процентного вмісту ліпідів провела по різниці в масі наважки до і після їх екстракції. Результати досліду записала в таблицю.

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Mпов.сух. матеріалу з пакетом до екстракції г. | М порожнього пакету, г. | Наважка пов.сух. матеріалу г. | Вміст води, % | Наважка абс.сух. матеріалу, г | М матеріалу з пакетом після екстракції, г. | М матеріалу без пакету після екстракції, г. | Вміст ліпідів в абс. Сухій наважці,% |
| 2,8067 | 1,3067 | 1,5000 | 3,5 | 1,4475 | 2,6182 | 1,3115 | 9,4 |

**4.2.Розділення фосфоліпідів методом ТШХ**

Ліпідний екстракт нанесли капіляром на Silufol пластинку на відстані 1 см. Від краю пластинки. В якості розчинника використовували суміш хлороформ-метанол-вода у співвідношенні 65:25:4. Пластинку помістили в хроматографічну камеру з розчинником і вийняли, коли розчинник піднявся на 1,5 см. Від верхнього краю. Пластинку висушили і оприскали 10%-ним розчином сульфатної кислоти до появи обвуглених плям.

Для ідентифікації фосфоліпідів порахувала значення Rf і порівняли з теоретичним значенням і виявили такі фосфоліпіди: сфінгомієліни, кардіоліпіни, лецитини.

**РОЗДІЛ 5**

**Обговорення результатів дослідження**

В літературному огляді вказувалось, що немає точних відомостей про вміст ліпідів у насінні сосни звичайної, а лише дані про вміст, який коливається в межах 5-15%. В даній роботі проводили дослідження щодо кількості ліпідів в насінні та розділенні фосфоліпідів на фракції.

Визначення вмісту ліпідів у насінні сосни звичайної проводили ваговим методом, по різниці пакетів до і після екстракції. І виявили, що вміст ліпідів є 9,4%.

З ліпідним екстрактом проводили розділення фосфоліпідів на фракції методом ТШХ. Після розділення одержали на пластинці плями, які розміщувались у такій послідовності (мал.1). Обчислили значення Rf і порівняли з теоретичними даними. І виявили, що до складу насіння сосни звичайної входять такі фосфоліпіди: сфінгомієліни, лецитини, кардіоліпіни. Результати звели у таблицю.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Фосфоліпіди | | L,см. | Rf | Rf |
| Cфінгомієліни | | 3,3 | 0,254 | 0,29±0,055 |
| Лецетини | | 4,7 | 0,362 | 0,39±0,055 |
| Кардіоліпіни | | 11,8 | 0,908 | 0,92±0,015 |
|  | |

1-сфінгомієліни; 2- лецетини; 3- кардіоліпіни.

1

3

2

### Мал. 1

**ВИСНОВКИ**

1. Проведено літературний огляд по характеристиці сосни звичайної, її механічному складу; властивостях ліпідів.

2. Розглянуто методи визначення та розділення ліпідів в насінні сосни звичайної.

3. Розраховано загальний вміст ліпідів, який становить 9,4%, ваговим методом.

4. Визначено якісний склад фосфоліпідів в насінні сосни звичайної методом ТШХ і виявлено: сфінгомієліни, кардіоліпіни, лецетини.

**СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ**

1. Биология. Большой энциклопедический словарь / Гл. ред. Гиляров М.С..- М.: Большая русская энциклопедия, 1999.- 985с.

2. Біологія: Навч. Посібник / Слюсарів А.О., Самсонов О.В., Мухін В.М. та ін.; за ред. та пер. з рос.. Мотузяного В.О.-2-ге вид., К.:В. ш., 1995. – 607с.

3. Довідник з біології / за ред. Ситника К.М.- К.: Наук. Думка, 1998. – 682с.

4. Лікарські рослини і їх застосування / Марченко М.С., Карамишев А.М., Сила В. І. 2-ге вид., К.: Здоров’я, 1981. – 232с.

5. Кнорре Д. Г., Мызина С. Д. Биологическая химия: Учеб. для хим., биол. и мед. спец. вузов-М.: В. ш., 1998.- 479с.

6. Біологічна хімія / за ред. Сопіна Є.Ф. –К.:В.ш., 1972.- 384с.

7. Боєчко Ф. Ф. Біологічна хімія. – К.: В.ш., 1989. – 438с.

8. Филиппович Ю.Б. Основы биохимии. – 2-е изд., - М.: В.ш., 1985. – 503с.

9. Ермолаев М.В. Биологическая химия. – М.: Медицина, 1983. – 300с.

10. Добрынская М.А., Павлович И.А. Учебник биологической химии. – Л.:Медгиз, 1961. – 230с.

11. Кучеренко Н.Е., Васильев М.А. Липиды. – К.: В.ш. 1983. – 263с.

12. Кучеренко Н.Е. Биохимия. – Л.: В.ш., 1988. – 432с.

13. Войтюк В.П., Коритан З.Н. Випробні та сортовипробні культури сосни звичайної на Волині. – Луцьк, 1999. – 70с.

14. Филипович Ю.Б. Практикум по общей биохимии. – М.: Просвещение, 1982. – 321с.

15. Виноградова Р.П., Кучеренко Н.Е., Литвиненко А.Р. Біологічна хімія. Практикум. – К.: В.ш.,1987. – 368с.

16. Методы биохимического анализа. Под. ред. Полевого В.В. и Максимова Г.Б. – Л.: Изд-во Ленинградского университета, 1978. – 192с.

**ДОДАТОК А**

###### Техніка безпеки в лабораторії органічної хімії

1. Під час роботи в лабораторії дотримуйтесь чистоти, тиші і порядку.
2. Не дозволяється працювати в лабораторії при відсутності лаборанта або викладача. Категерично забороняється працювати в лабораторії одному.
3. Перед проведенням кожної операції старано огляньте апаратуру і посуд, переконайтесь в тому, що прилад зібраний вірно.
4. Не можна нагрівати закритими ніякий посуд і апарати, крім тих, які спеціально для цього призначені.
5. Під час нагрівання рідин і твердих тіл в пробірках (колбах) не направляйте отвір посудини на себе чи на сусіда.
6. Категорично забороняється пробувати речовини на смак. Визначити запах сполуки можна, обережно направляючи на себе пари легким рухом руки.
7. Не виливайте в раковини залишки кислот, лугів і рідин з різким запахом; зливайте їх у спеціальний посуд.
8. Категорично забороняється переганяти діетиловий етер та інші етери невідомої якості. В усіх таких випадках потрібно провести пробу на відсутність пероксидів, які швидко утворюються при контакті розчинників з повітрям.
9. Диетиловий етер, бензен, ацетон, етилацетат та інші горючі легкозаймисті рідини не можна нагрівати на відкритому полум’ї, поблизу пальника у відкритому посуді. Ці речовини нагрівають на електричній водяній або повітряній бані.
10. Перед тим як розібрати прилад, в якому міститься легкозаймиста речовина, загасіть поблизу усі пальники.
11. Кислоти і луги не можна затягувати ротом в сифони і піпетки.
12. Розводити сульфатну кислоту можна лише додаючи її до води в термостійкому посуді, а не навпаки.
13. Бром сильно діє на слизові оболонки і при попаданні на шкіру призводить до появи важкозаживаючих ран. Всі роботи з бромом проводити в витяжній шафі, в гумових рукавицях, в захисних окулярах.
14. На доступному місті в лабораторії повинні знаходитися медикаменти для надання першої допомоги: розчини перманганату калію, борної кислоти, гідрокарбонату натрію, йодна настойка, вата, бинти, пластир, мазь від опіків.