

การทดลองที่ 12

ลิพิด 2

อ. ชัยวัฒน์ วามวรรรัตน์

วัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาสมบัติบางประการของลิพิดบางชนิด

ลิพิด (lipid) หรือที่รู้จักกันในชื่อของไขมัน เป็นกลุ่มสารชีวโมเลกุลที่มีความแตกต่างหลากหลายทางโครงสร้าง แต่จัดไว้ในกลุ่มเดียวกันตามสมบัติการละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น ปิโตรเลียมอีเธอร์ คลอโรฟอร์ม เบนซีน แต่ไม่ละลายน้ำหรือละลายได้น้อยมาก ลิพิดพวกที่สำคัญ ได้แก่ กรดไขมัน (fatty acids) ไตรเอซิลกลีเซอรอล (triacylglycerol) ไชแว็กซ์ (wax) ฟอสโฟลิพิด (phospholipids) ไกลโคลิพิด (glycolipids) แอลิฟาติกแอลกอฮอล์ (aliphatic alcohols) วิตามินที่ละลายในไขมัน และไอโซพรีนอยด์ (isoprenoids) ซึ่งได้แก่ สเตียรอยด์ (steroids) และแคโรทีนอยด์ (carotenoids)

ลิพิดจัดแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ

1. ลิพิดที่ไม่สามารถไฮโดรไลซ์ได้ (non-hydrolyzable lipids) หรือ non-saponifiable lipids ได้แก่ กรดไขมันอิสระ โทโคเฟอร์รอล (tocopherols) และไอโซพรีนอยด์
2. ลิพิดที่ถูกไฮโดรไลซ์ได้ (hydrolyzable lipids) หรือ saponifiable lipids ลิพิดพวกนี้มีส่วนเอซิล-เรสซิดูวซ์ (acyl residues) เชื่อมอยู่กับโครงสร้างหลักด้วยพันธะเอสเทอร์ (ester bond) อาจเรียกลิพิดประเภทนี้ได้ว่า เอซิลลิพิด (acyl lipids) ได้แก่ โมโน หรือได หรือไตรกลีเซอไรด์ ฟอสโฟลิพิด ไกลโค-ลิพิด ไชแว็กซ์ สเตอรอลเอสเทอร์

การทดลองในครั้งนี้จะศึกษาสมบัติบางประการของลิพิดบางชนิด

การทดลองที่ 12.1 สมบัติการละลายของลิพิดชนิดต่าง ๆ

- สารเคมีใช้ 1. ตัวอย่างลิพิด 4 ชนิด ได้แก่ น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันหมู น้ำมันมะพร้าว น้ำมันปาล์มโอเลอิน
2. ตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ 6 ชนิด ได้แก่ ปิโตรเลียมอีเธอร์ เฮกเซน คลอโรฟอร์ม
- คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (2 : 1 โดยปริมาตร) 95% เอทานอล และ 70% เอทานอล

วิธีทดลอง

1. เตรียมหลอดทดลอง 4 หลอดสำหรับการทดสอบการละลายของตัวอย่างลิพิดด้วยตัวทำละลายหนึ่งชนิด หยดตัวอย่างลิพิด 1 หยดลงในหลอดทดลองที่เตรียมไว้ หลอดละ 1 ตัวอย่างลิพิด
2. เติมตัวทำละลายหลอดละ 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วสังเกตการละลาย บันทึกผลเป็นละลายได้ดี ละลายได้บ้าง หรือไม่ละลาย ซึ่งสังเกตเห็นการแยกชั้นอย่างชัดเจน
3. ทำลักษณะเดียวกับข้อ 1 และ 2 กับตัวทำละลายชนิดอื่น ๆ อีก 5 ชนิด
4. เปรียบเทียบผลเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างของตัวอย่างลิพิดกับความมีขั้วของตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สามารถละลายลิพิดได้ดี

ตารางบันทึกผลการทดลองที่ 12.1

	ชนิดของลิพิด			
	น้ำมัน ถั่วเหลือง	น้ำมันปาล์ม โอเลอิน	น้ำมันหมู	น้ำมันมะพร้าว
ชนิดของกรดไขมันชนิดหลัก ที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมัน (ค้นคว้ามาตอบ)				
การละลายในตัวทำละลายที่เป็น ปิโตรเลียมอีเธอร์ เฮกเซน คลอโรฟอร์ม คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (2 : 1) 95% เอทานอล 70% เอทานอล				

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลองที่ 12.1

คำถาม

เมื่อต้องการละลายลิพิดที่มีขั้วและไม่มีขั้วออกจากตัวอย่าง ควรจะใช้ตัวทำละลายชนิดใด (ตัวทำละลายในตารางที่ 12.1) เพราะเหตุใด จงให้เหตุผล

การทดลองที่ 12.2 การทดสอบความไม่อิ่มตัวของกรดไขมัน

กรดไขมันแบ่งได้เป็นกรดไขมันอิ่มตัวและกรดไขมันไม่อิ่มตัวซึ่งมีพันธะคู่ในโครงสร้าง ไขมันที่มาจากสัตว์มักประกอบด้วยกรดไขมันอิ่มตัว แต่ในไขมันจากพืชมักพบเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัว และพืชบางชนิดจะให้กรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่หลายตำแหน่ง (polyunsaturated fatty acids หรือ PUFAs)

ในการวิเคราะห์ความไม่อิ่มตัวของกรดไขมันสามารถใช้สารพวกฮาโลเจนได้ เช่น โบรมีน (bromine) หรือ ไอโอดีน (iodine) โดยสารเหล่านี้สามารถทำปฏิกิริยากับพันธะคู่ในกรดไขมันไม่อิ่มตัว สำหรับการทดลองนี้จะใช้ไอโอดีนปริมาณที่กำหนดไว้ทำปฏิกิริยากับตัวอย่างลิพิด ถ้าลิพิดนั้นมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวเป็นองค์ประกอบ ไอโอดีนจะถูกใช้จนหมด เมื่อมีการเติมน้ำแบ่งลงไปภายหลัง ก็จะไม่มีการเกิดไอโอดีนเหลือพอที่จะเกิดโครงสร้างเชิงซ้อนกับแป้งจนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน

- สารเคมีใช้
1. ตัวอย่างลิพิด ได้แก่ กรดโอเลอิก น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันมะพร้าว น้ำมันหมู น้ำมันปาล์ม โอเลอีน
 2. 1 % กรดแอสซิติค
 3. 10 % โปวิดอน-ไอโอดีน (povidone-iodine)
 4. 1 % น้ำแบ่ง

วิธีทดลอง

1. เตรียมหลอดทดลอง 5 หลอด หยดตัวอย่างลิพิดลงในแต่ละหลอด ๆ ละ 1 ชนิด เป็นปริมาณ 15 หยด
2. เติม 1 % กรดแอสซิติคลงในหลอดทดลองทุกหลอด ๆ ละ 2 มิลลิลิตร เขย่าแรง ๆ ให้เข้ากัน
3. หยด 10 % โปวิดอน-ไอโอดีนลงในหลอดทดลองทุกหลอด ๆ ละ 1 หยดเท่า ๆ กัน เขย่าแรง ๆ ให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixer แล้วตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำออกมาเขย่าแรง ๆ ให้เข้ากันเป็นระยะ ๆ
4. เมื่อครบเวลา สังเกตสีของไอโอดีน บันทึกผลแล้วนำมาเติมน้ำแบ่งลงในหลอดทดลองทุกหลอด ๆ ละ 2 มิลลิลิตร เขย่าแรง ๆ ให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixer สังเกตว่าสีของสารละลายมีการเปลี่ยนแปลงไปหรือไม่

ตารางบันทึกผลการทดลองที่ 12.2

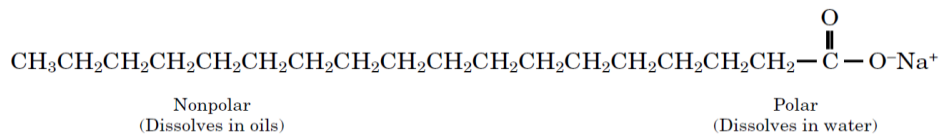
ตัวอย่างลิพิด	ลักษณะที่ปรากฏ	
	สีของไอโอดีนในสารละลายเมื่อครบเวลา*	สีของสารละลายหลังเติมน้ำแบ่ง*
กรดโอเลอิก		
น้ำมันปาล์มโอเลอีน		
น้ำมันถั่วเหลือง		
น้ำมันมะพร้าว		
น้ำมันหมู		

* ให้เติมเครื่องหมาย + หรือ - ลงในตารางท้ายผลสีของสารละลายที่บันทึกไว้ กรณีที่เกิดปฏิกิริยากับพันธะคู่ในกรดไขมันให้ใส่ + และใส่ - กรณีที่ไม่เกิดปฏิกิริยากับพันธะคู่ในกรดไขมัน

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลองที่ 12.2

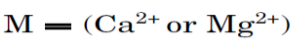
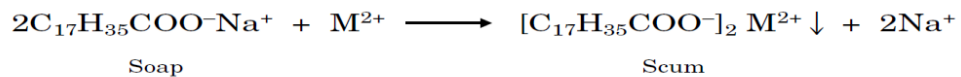
การทดลองที่ 12.3 สมบัติของสบู่

สบู่เป็นเกลือโปตัสเซียมหรือโซเดียมของกรดไขมัน โมเลกุลของสบู่ประกอบด้วย 2 ส่วน คือ ส่วนชอบน้ำ (หมู่คาร์บอกซีเลท) และส่วนไม่ชอบน้ำ (สายโซ่ไฮโดรคาร์บอนของกรดไขมัน) (ดังรูปแสดงไว้ข้างล่าง) เมื่ออยู่ในน้ำ โมเลกุลของสบู่รวมตัวกันเกิดโครงสร้างที่เรียกว่า ไมเซลล์ (micelle) โดยหันเอาส่วนชอบน้ำไว้ด้านนอกสัมผัสกับน้ำ และส่วนไม่ชอบน้ำไว้ด้านใน ทำให้สบู่ละลายน้ำได้ และมีสมบัติเป็นอิมัลซิไฟเออร์ (emulsifier) ซึ่งสามารถทำให้ส่วนผสมของไขมันและน้ำเข้าเป็นเนื้อเดียวกันได้ กล่าวคือเมื่อน้ำสบู่สัมผัสคราบไขมันจะสามารถดึงเอาไขมันนั้นไปละลายอยู่ภายในไมเซลล์ได้ สบู่จึงมีความสามารถในการซักล้างคราบไขมันได้

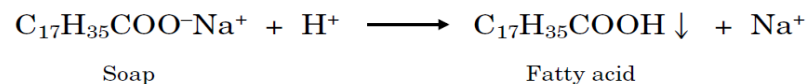


ปัจจุบันเรื่องการซักล้างได้มีสารดีเทอร์เจนต์ (detergent) เข้ามาแทนที่สบู่ซึ่งมีข้อจำกัดที่สำคัญ 2 ประการ คือ

1. เมื่อใช้สบู่ซักล้างในน้ำกระด้าง ซึ่งมีปริมาณแคลเซียมและแมกนีเซียมไอออนอยู่สูง เกลือโปตัสเซียมหรือเกลือโซเดียมของกรดไขมันถูกเปลี่ยนเกลือแคลเซียมหรือแมกนีเซียม (ตั้งสมการเคมีด้านล่าง) ซึ่งไม่ละลายน้ำและตกตะกอนหมดสภาพในการซักล้าง เกิดเป็นลักษณะที่เรียกว่า ไคลสบู่ นอกจากนี้หากสบู่อยู่ในรูปของเกลือชนิดอื่น ๆ เช่น เกลือตะกั่ว หรือเกลืออลูมิเนียม ก็ไม่ละลายน้ำเช่นกัน



2. เมื่อสบู่อยู่ในสภาพสารละลายที่เป็นกรด สบู่จะคืนรูปกลับเป็นกรดไขมัน สูญเสียความสามารถในการซักล้าง ตั้งสมการเคมีต่อไปนี้



การทดลองที่ 12.3.1 การเปลี่ยนรูปเกลือของสบู่

สบู่ที่ผลิตได้จะมีลักษณะแตกต่างกันตามรูปเกลือที่เกิดขึ้น หากเป็นสบู่ที่เป็นเกลือโปตัสเซียมของกรดไขมันจะมีลักษณะเป็นสบู่เหลว ขณะที่สบู่ที่เป็นเกลือโซเดียมของกรดไขมันจะเป็นเกล็ดสบู่หรือเป็นสบู่ก้อนแข็ง

สารเคมีที่ใช้

1. สารละลายสบู่ที่ได้จากการทดลองที่ 11
2. สารละลายโซเดียมคลอไรด์ 6 โมลาร์

วิธีทดลอง

1. เติมสารละลายสบู่ลงในปิกเกอร์ขนาดเล็ก 10 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำลงไปอีก 10 มิลลิลิตร
2. ให้ความร้อนกับสารละลายในปิกเกอร์ จนกระทั่งไม่มีกลิ่นของอัลกอฮอล์เหลืออยู่ (หรือให้ปริมาตรเหลืออยู่ราวครึ่งหนึ่ง คือ 10 มิลลิลิตร)
3. หล่อปิกเกอร์ให้เย็นเท่าอุณหภูมิห้อง แล้วเติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 6 โมลาร์ลงไป 5 มิลลิลิตร สังเกตลักษณะตะกอนสบู่ที่เกิดขึ้น บันทึกผลไว้
4. ใช้กระดาษกรอง กรองเก็บเอาตะกอนสบู่ที่เตรียมได้ แล้วผึ่งไว้ให้หมาดๆ บนกระดาษกรอง สำหรับใช้ในการทดลองต่อไป
5. ทดสอบการละลายน้ำของตะกอนสบู่ที่เกิดขึ้น โดยตักตะกอนสบู่ปริมาณประมาณ 4-5 เมล็ดแก้วเขียวลงในหลอดทดลอง ละลายด้วยน้ำ 5 มิลลิลิตร สังเกตการละลายและการมีฟองของสบู่

ผลการทดลองที่ 12.3.1

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลองที่ 12.3.1

คำถาม

จงเขียนปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในการทดลองที่ 12.3.1 นี้

การทดลองที่ 12.3.2 การทดสอบสมบัติอิมัลซิไฟเออร์ (emulsifier) ของสบู่

- สารเคมีที่ใช้
1. สารละลายสบู่ที่ได้จากการทดลองที่ 11
 2. ตะกอนสบู่ที่ได้จากการทดลองที่ 12.3.1 กลุ่มที่ใช้น้ำมันมะพร้าว
 3. น้ำมันพืช

วิธีทดลอง

1. เตรียมหลอดทดลอง 3 หลอด เติมน้ำกลั่นลงไปทุกหลอด หลอดละ 5 มิลลิลิตร
2. หยดน้ำมันพืชลงไปทุกหลอดๆ ละ 5 หยด เขย่า สังเกตการแยกตัวออกมาจากน้ำของหยดไขมันที่ไม่ละลายน้ำ แล้วเก็บหลอดหนึ่งไว้เป็นหลอดเปรียบเทียบ อีก 2 หลอดนำไปทดลองต่อในข้อ 3 และ 4
3. ตักตะกอนสบู่ที่ได้จากการทดลองที่ 12.3.1 ปริมาณประมาณ 4-5 เมล็ดถั่วเขียวลงในหลอดทดลองหลอดหนึ่ง เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 5-10 นาที เปรียบเทียบผลกับอีกหลอดที่ไม่ได้ใส่ตะกอนสบู่
4. เติมสารละลายสบู่ที่ได้จากการทดลองที่ 11 ลงในหลอดทดลองอีกหลอดที่เหลือ 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 5-10 นาที เปรียบเทียบผลกับอีกหลอดที่ไม่ได้ใส่ตะกอนสบู่

ผลการทดลองที่ 12.3.2

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลองที่ 12.3.2

การทดลองที่ 12.3.3 การทดสอบการละลายของสบู่ในน้ำกระด้าง

- สารเคมีที่ใช้
1. สารละลายสบู่ที่ได้จากการทดลองที่ 11
 2. ตะกอนสบู่ที่ได้จากการทดลองที่ 11.3.1 กลุ่มที่ใช้น้ำมันมะพร้าว
 3. สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (10% น้ำหนักโดยปริมาตร)
 4. สารละลายแมกนีเซียมคลอไรด์ (10% น้ำหนักโดยปริมาตร)
 5. สารละลายตะกั่วไนเตรต (10% น้ำหนักโดยปริมาตร)

วิธีทดลอง

1. นำตะกอนสบู่ที่ได้จากการทดลองที่ 12.3.1 กลุ่มที่ใช้น้ำมันมะพร้าว ที่เหลือจากการทดลองที่ 12.3.2 มาทั้งหมดใส่ลงในบีกเกอร์ แล้วเติมน้ำลงไป 30 มิลลิลิตร
2. นำบีกเกอร์ในข้อ 1 ไปอุ่นบนเตาไฟฟ้าจนตะกอนสบู่ละลายหมด ระวังอย่าให้สารละลายเดือด
3. เตรียมหลอดทดลอง 6 หลอด แบ่งเป็น 2 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 หลอด ชุดแรกเติมสารละลายที่ได้ในข้อ 2 หลอดละ 2 มิลลิลิตร ชุดที่ 2 เติมสารละลายสบู่ที่ได้จากการทดลองที่ 11 ลงไปหลอดละ 2 มิลลิลิตร
3. นำหลอดทดลองในแต่ละชุดมาเติมสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ แมกนีเซียมคลอไรด์ และตะกั่วไนเตรต หลอดละ 1 ชนิดสารละลาย เป็นจำนวน 5 หยด แล้วสังเกตว่าเกิดอะไรขึ้น หากมีตะกอน ให้เขย่าหลอดดูว่าตะกอนนั้นละลายหรือไม่

ผลการทดลองที่ 12.3.3

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลองที่ 12.3.3

คำถาม

จงเขียนปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในการทดลองที่ 12.3.3 นี้

การทดลองที่ 12.3.4 การคืนรูปกลับเป็นกรดไขมันของสบู่

- สารเคมีที่ใช้
1. สารละลายสบู่ที่เตรียมได้จากการทดลองที่ 12.3.3 จากการละลายตะกอนสบู่
 2. สารละลายสบู่ที่ได้จากการทดลองที่ 11
 3. กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น

วิธีทดลอง

1. เตรียมหลอดทดลอง 2 หลอด หลอดหนึ่งเติมสารละลายที่เตรียมได้จากการทดลองที่ 12.3.3 ข้อ 2 ลงไป 5 มิลลิลิตร อีกหลอดหนึ่งเติมสารละลายสบู่ที่ได้จากการทดลองที่ 11 ลงไป 5 มิลลิลิตร
2. ค่อยๆ เติมกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นลงไป 5 มิลลิลิตร ให้ทำในตู้ควั่น เขย่าให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ให้สารละลายแยกชั้น สังเกตลักษณะที่เกิดขึ้น

ผลการทดลองและสรุปและวิจารณ์ผลการทดลองที่ 12.3.4

คำถาม

จงเขียนปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในการทดลองที่ 12.3.4 นี้

การทดลองที่ 12.4 การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของกรดไขมันและยูเรีย (fatty acid-urea complex)

กรดไขมันสามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับยูเรียเป็นรูปผลึกหกเหลี่ยม ผลึก 1 หน่วยเซลล์ที่เกิดขึ้นประกอบขึ้นจากยูเรีย 6 โมเลกุล และมีช่องกลวงตรงกลางให้กรดไขมันที่มีขนาดเหมาะสมสอดใส่เข้าไปภายใน กรดไขมันไม่อิ่มตัวเกิดสารประกอบเชิงซ้อนที่เสถียรได้เร็วกว่ากรดไขมันไม่อิ่มตัว และกรดไขมันที่มีระดับความไม่อิ่มตัวน้อยเกิดผลึกได้เร็วกว่ากรดไขมันที่มีระดับความไม่อิ่มตัวมาก วิธีนี้มีประโยชน์ในการแยกกรดไขมันที่มีความแตกต่างของระดับความไม่อิ่มตัวออกจากกัน

- สารเคมีที่ใช้**
1. กรดไขมันชนิดต่างๆ ได้แก่ กรดปาล์มิติก (palmitic acid) กรดสเตียริก (stearic acid) และกรดโอเลอิก (oleic acid)
 2. สารละลายยูเรียในเมทานอล (10 % น้ำหนักโดยปริมาตร)

วิธีทดลอง

1. ตักกรดปาล์มิติก กรดสเตียริก ประมาณ 1 ช้อนเล็กลงในหลอดทดลอง หลอดละ 1 ชนิดและเติมกรดโอเลอิก 1 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลองอีกหลอดหนึ่ง
2. ละลายกรดไขมันในหลอดทดลองด้วยสารละลายยูเรียในเมทานอล 5 มิลลิลิตร หากละลายได้ไม่ดี ให้ใช้ความร้อนช่วยในการละลายโดยอุ่นในอ่างน้ำอุ่น อุณหภูมิ 80 °C
3. นำแต่ละหลอดไปทำให้เย็นโดยการแช่ในน้ำเย็น สังเกตความเร็วการเกิดผลึกของกรดไขมันแต่ละหลอด แล้วเปรียบเทียบหาความสัมพันธ์ของโครงสร้างของกรดไขมันกับความเร็วการเกิดผลึกและปริมาณผลึกที่เกิดขึ้น

ตารางบันทึกผลการทดลองที่ 12.4

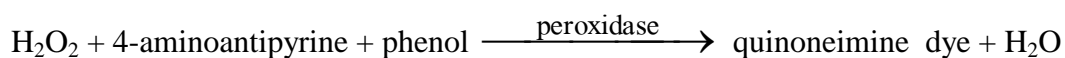
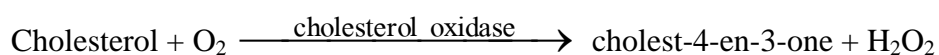
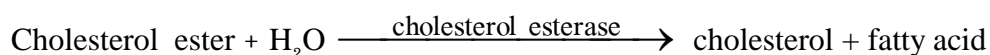
	ชนิดของกรดไขมัน		
	กรดปาล์มติก	กรดสเตียริก	กรดโอเลอิก
ประเภทของกรดไขมัน			
จำนวนคาร์บอนในโครงสร้าง			
ลำดับการเกิดสารประกอบ เชิงซ้อนของกรดไขมันและยูเรีย			

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลองที่ 12.4

การทดลองที่ 12.5 การทดสอบสเตอรอยด์

สเตอรอลจัดเป็นสารประกอบกลุ่มหนึ่งในสารประกอบจำพวกสเตอรอยด์ ซึ่งมีโครงสร้างเป็น cyclopentanoperhydrophenanthrene สเตอรอลมีหมู่ไฮดรอกซีที่ตำแหน่ง C-3 และสายโซ่คาร์บอนที่มีอย่างน้อย 8 อะตอมเกาะที่ตำแหน่ง C-17 ตัวอย่างสเตอรอลที่สำคัญได้แก่ คอเลสเตอรอล (cholesterol) สติกมาสเตอรอล (stigmasterol) และเออโกสเตอรอล (ergosterol) ซึ่งพบในคนและสัตว์พืชและเชื้อราตาม ลำดับ

คอเลสเตอรอลสามารถทดสอบโดยใช้ปฏิกิริยา Liebermann-Burchard ซึ่งให้คอเลสเตอรอลทำปฏิกิริยากับแอซีติกแอนไฮไดรด์และกรดซัลฟิวริก เกิดสารประกอบที่มีสีเขียว อันเป็นผลจากปฏิกิริยาของหมู่ไฮดรอกซีและพันธะคู่ในวงแหวนโครงสร้างของคอเลสเตอรอล โดยสีค่อยๆ เปลี่ยนจากสีชมพู กลายมาเป็นสีม่วง และเป็นสีเขียวในที่สุด ปฏิกิริยานี้สามารถปรับใช้วิเคราะห์ปริมาณคอเลสเตอรอลในเลือดได้ แต่ปัจจุบันไม่เป็นที่นิยมแล้วเนื่องจากขาดความจำเพาะ วิธีทางเอนไซม์จึงเข้ามาแทนที่ ตัวอย่างปฏิกิริยาที่มีการใช้ในปัจจุบันสามารถสรุปเป็นสมการได้ดังนี้



คอเลสเตอรอลในร่างกายอยู่ในรูปของคอเลสเตอรอลเอสเทอร์ จึงต้องถูกไฮโดรไลซ์โดยมีเอนไซม์เอสเทอร์เรสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของคอเลสเตอรอลอิสระ ซึ่งถูกออกซิไดส์ โดยการทำงานของเอนไซม์ออกซิเตสได้ cholest-4-en-3-one และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ซึ่งไฮโดรเจนเปอร์

ออกไซด์ที่เกิดขึ้นทำปฏิกิริยาต่อในทันทีกับฟีนอลและ 4-aminoantipyrine เมื่อมีเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ได้สารประกอบ quinoneimine ที่มีสีชมพูและมีค่าการดูดแสงสูงสุดที่ 500 นาโนเมตร สารประกอบ quinoneimine ที่เกิดขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณคอเลสเทอรอลที่มีอยู่

- สารเคมีที่ใช้**
1. คอเลสเทอรอล
 2. แอซีติกแอนไฮไดรด์
 3. คลอโรฟอร์ม
 4. กรดซัลฟิวริกเข้มข้น

วิธีทดลอง

1. ตักคอเลสเทอรอลปริมาณเท่าหัวไม้ขีด ใส่ลงในหลอดทดลอง แล้วนำหลอดนี้ไปทำการทดลองต่อในตู้ควีน
2. เติมคลอโรฟอร์ม 3 มิลลิลิตร และแอซีติกแอนไฮไดรด์ 1 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลอง
3. เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1 หยด ลงในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากัน บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงสีของสาร

*** เนื่องจากการทดลองนี้ ใช้กรดที่เข้มข้น จงระวังอย่าให้กรดกระเด็นถูกผิวหนังหรือเข้าตา ***

ผลการทดลองและสรุปและวิจารณ์ผลการทดลองที่ 12.5

การทดลองที่ 12.6 ปฏิกิริยาคาร์-ไพร์ซ (Carr-Price reaction)

ในปี ค.ศ. 1926 คาร์และไพร์ซ พบปฏิกิริยาระหว่างวิตามินเอกับแอนติโมนีไตรคลอไรด์ (antimony trichloride) ในคลอโรฟอร์มซึ่งให้สีน้ำเงิน ปฏิกิริยานี้มีความไวมาก แต่มีความยุ่งยากหลายประการ คือ สีที่เกิดขึ้นไม่เสถียร จางหายได้เร็วมาก น้ำยาที่ใช้ต้องปราศจากความชื้น และตัวทำละลายที่ใช้ระเหยได้ง่ายมาก นอกจากนี้แคโรทีน (carotene) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอก็เกิดปฏิกิริยาได้ด้วย และให้สีที่เสถียรกว่า แต่ต้องใช้ปริมาณที่มากกว่าจึงให้สีเข้มเท่ากับวิตามินเอ

- สารเคมีที่ใช้**
1. เม็ดวิตามินเอ
 2. สารละลายแคโรทีนในคลอโรฟอร์ม
 3. สารละลายอิมตัวของแอนติโมนีไตรคลอไรด์ในคลอโรฟอร์ม

วิธีทดลอง

1. ใช้เข็มเจาะเม็ดวิตามินเอ 1 เม็ด บีบเอาน้ำมันใส่ลงในหลอดทดลองที่แห้งสนิท และอีกหลอดหนึ่งที่แห้งสนิท ให้เติมสารละลายแคโรทีน 1 มิลลิลิตร

2. นำทั้งสองหลอดไปแช่ในอ่างน้ำแข็งจนกระทั่งเย็นจัด
3. เติมสารละลายแอนติโมนีไตรคลอไรด์ที่เย็นจัดลงไปหลอดละ 2 มิลลิลิตร แล้วรีบสังเกต และเปรียบเทียบการเกิดสีน้ำเงินและการจางของสีในหลอดทั้งสอง

ผลการทดลองและสรุปและวิจารณ์ผลการทดลองที่ 12.6

การทดลองที่ 12.7 การทดสอบเฟอร์เตอร์–ไมเยอร์วิธีดัดแปลง (Modified Further–Meyer test)

การทดสอบนี้ใช้ทดสอบโทโคเฟอร์อล (tocopherol) หรือวิตามินอี ซึ่งให้สีจำเพาะเป็นสีแดงอมน้ำตาล แคโรทีนอยด์ต่าง ๆ และสเตอรอลสามารถเกิดสีกับการทดสอบนี้ได้แต่เป็นสีเหลืองหรือน้ำตาล และหากมีในปริมาณที่มากจะรบกวนการวิเคราะห์โทโคเฟอร์อลที่มีปริมาณน้อยได้

- สารเคมีที่ใช้
1. เม็ดวิตามินอี
 2. สารละลายแคโรทีนในคลอโรฟอร์ม
 3. กรดไนตริกเข้มข้น
 4. บิวทานอล

วิธีทดลอง

1. ใช้เข็มเจาะเม็ดวิตามินอี 1 เม็ด บีบเอาน้ำมันใส่ลงในหลอดทดลองที่แห้งสนิท และอีกหลอดหนึ่งที่แห้งสนิท ให้เติมสารละลายแคโรทีน 1 มิลลิลิตร
2. เติมบิวทานอล 4 มิลลิลิตร และกรดไนตริกเข้มข้น 1 มิลลิลิตร ลงในแต่ละหลอด ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปแช่ในน้ำร้อนอุณหภูมิ 80 °ซ (อย่าให้อุณหภูมิสูงไปกว่านี้) นาน 10 นาที สังเกตสีที่เกิดขึ้น

ผลการทดลองและสรุปผลและวิจารณ์ผลการทดลองที่ 12.7