

Лабораторна робота №2

“ Ефірні олії: фізико-хімічні властивості, методи виділення, визначення якості.”

Мета заняття – засвоєння загальних прийомів виділення ефірної олії з рослинної сировини та її стандартизації.

План заняття:

1. Засвоєння основних теоретичних понять теми.
2. Добір проб рослинної сировини для проведення кількісного аналізу ефірної олії.
3. Складання приладу для проведення гідродистиляції ефірної олії.
4. Вилучення ефірної олії.
5. Визначення фізико-хімічних властивостей отриманої ефірної олії та зразків, запропанованих викладачем.
6. Визначення домішок в отриманій ефірній олії та зразках, запропанованих викладачем.
7. Якісний та кількісний аналіз окремих компонентів ефірної олії.

Уміння і навички, необхідні для освоєння заняття:

- уміння працювати з електроприладами;
- уміння правильно зібрати прилад для проведення гідродистиляції;
- уміння правильно провести добір проб рослинної сировини для проведення кількісного аналізу ефірної олії;
- уміння працювати з аналітичними вагами;
- уміння працювати з рефрактометром.

Основні поняття теми:

Терпени – вуглеводні аліфатичного або циклічного ряду, в основі будови яких лежить молекула ізопрена. Представниками терпенів є ефірні олії, смоли, бальзами, каучук, гуттаперча, каротиноїди, токофероли, сапоніни.

Ефірні олії – багатокомпонентні суміші летких органічних сполук, що утворюються в рослинах і зумовлюють їх запах.

До складу ефірних олій входять похідні терпенів багатьох груп органічних сполук, які включають від однієї до трьох ланок ізопрена: вуглеводні, спирти, прості і складні ефіри, альдегіди, кетони, кислоти аліфатичного ряду і циклічні. Циклічні сполуки поділяються на гідроциклічні, до яких належать терпени та їхні похідні, та сполуки ароматичного ряду. В ефірних оліях переважають вуглеводні, але найбільш цінною складовою частиною є кисневмісні сполуки, особливо спирти і ефіри, які мають приємний запах.

Фізичні та хімічні показники ефірних олій, пов'язані з їх складом, який залежить від ряду причин: місця і умов життя рослини, часу збирання, методів

добування і очистки ефірних олій та ін. Ці обставини а також велика кількість складових речовин в ефірних оліях є причиною того, що повний їх аналіз часто супроводжується великими труднощами.

Методи виділення і дослідження ефірних олій.

Методи виділення ефірних олій можуть бути різними і залежать від стану, в якому перебуває ефірна олія в рослинній сировині, а також від його складу і властивостей.

Методи кількісного визначення ефірних олій у рослинних матеріалах істотно не відрізняються від методів промислового їх добування, бо ґрунтуються на тих самих принципах.

Методи виділення зводяться до перегонки сировини з водяною парою і водою, екстракції – вилучення різними органічними розчинниками, як леткими так і нелеткими, пресування. Вибір того чи іншого способу залежить перш за все від кількості та хімічного складу ефірної олії, морфолого-анатомічних властивостей сировини і галузі її застосування.

Для виділення ефірних олій використовують свіжо зібрану, підв'ялену, висушену або попередньо ферментовану сировину.

Пресування. Використовують для одержання ефірних олій зі шкурки плодів цитрусових. Подрібнену цедру або цілу шкірку пресують, потім олію відділяють центрифугуванням або іншим методом.

Екстракція. Метод використовують для виділення ефірних олій, компоненти яких розкладаються при гідродистиляції. Сировину екстрагують легко леткими розчинниками (петролейний ефір, бензол, етанол, метиленхлорид та ін.). З екстракту відганяють розчинник, залишок обробляють етанолом. Після звільнення етанольної фракції від розчинника одержують ефірну олію.

Відносно недавно розроблено метод виділення ефірних олій скрапленням двоокисом вуглецю або інертними газами в умовах зниженої температури.

Іноді зі свіжої сировини ефірну олію одержують методом **анфлеражу**. На скло наносять тонкий шар яловичого або свинячого жиру, а зверху розкладають сировину. Ефірна олія поглинається жиром, потім її екстрагують етанолом. Різновидом анфлеражу є метод мацерації, коли сировину заливають підігрітим до 50 – 70°C жиром. Одержана ефірна олія має більш низьку якість тому, що вона забруднюється пігментами, воском та іншими ліпофільними сполуками.

Із зазначених методів виділення найчастіше застосовується метод перегонки сировини з водяною парою і водою.

Перегонка з водяною парою. Цей метод є старовинним і найбільш поширеним. Базується на законі Дальтона про парціальні тиски. При перегонці з водяною парою крізь сировину, яка вміщена в перегонний куб, пропускають струмінь пари. Водяна пара захоплює ефірну олію і, проходячи крізь холодильник, стікає у приймач. Олія поступово накопичується над водою; її збирають та висушують. Кожна сировина вимагає додержання певних умов – температури, тиску, тривалості процесу.

Кількісне визначення ефірної олії в рослинній сировині

Кількісне визначення ефірної олії в сировині проводять об'ємним методом. По ДФ СРСР XI видання визначення ефірної олії проводять перегонкою з водяною парою із рослинної сировини з наступним виміром його об'єму. Перегонку проводять у колбі зі зворотним холодильником. За методом 1 приймач поміщають усередині колби; за методами 2а і 2б приймач розташовується поза колбою. Методом 2б користуються, коли ефірні олії при перегонці перетерплюють зміни (утворюють емульсію або легко гуснуть) або мають щільність більше або близьку до одиниці. Відгін проводять із використанням декаліну, який поглинає ефірну олію. Наважку сировини, ступінь подрібнення, час перегонки і метод, яким варто проводити визначення, вказуються у відповідних приватних статтях на рослинну сировину.

Метод 1. Визначення проводять у приладі (рис.1).

Наважку подрібненої сировини поміщають у широкогорлу круглодонну або плоскодонну колбу 1 місткістю 1000 мл, доливають 300 мл води і закривають гумовим короком 2 із зворотним холодильником 3. У пробці знизу закріплюють металеві гачки, на які із допомогою тонкого дроту підвішують градуйований приймач 4 так, щоб кінець холодильника знаходився точно над воронкоподібним розширенням приймача, не торкаючись його. Ціна поділки градуйованої частини приймача 0,025 мл. Приймач повинен вільно міститися в горлі колби, не торкаючись стінки горла, і відстояти від рівня води не менше чим на 50 мм. Колбу нагрівають до кипіння. При слабкому кипінні видержують протягом часу, зазначеного у відповідних статтях для кожного виду сировини. Пари води та ефірної олії конденсуються в холодильнику і рідина стікає в приймач. Масло відстоюють в градуйованому коліні приймача, а вода через менше коліно приймача витікає знову в колбу.

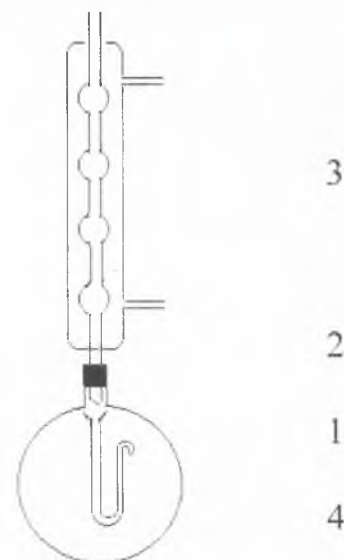


Рис. 1.

Після закінчення перегонки та охолодження розраховують об'єм відстояного шару ефірної олії та обчислюють її відсотковий вміст X за формулою:

$$X = \frac{V \times 100 \times 100}{m(100 - \omega)},$$

де V — об'єм ефірної олії, мл; m — маса сировини, г; ω — втрата в масі сировини при висушуванні, %.

Для визначення методами 2а і 2б використовують прилад (рис. 2), що містить у собі наступні елементи: колбу 1 для перегонки місткістю 1000 мл,

паропровідну вигнуту трубку 2, холодильник 3, градуйований приймач 4, що закінчується насподі краном 5 і зливною трубкою 8. Між холодильником і приймачем є розширення 6 із бічною трубкою 7, що служить для внесення розчинника в дистилат.

Перед кожним визначенням прилад очищують пропусканням пари протягом 15 - 20 хвилин. Після 6 - 8 визначень прилад, промивають послідовно ацетоном і водою.

Метод 2а. Наважку подрібненої рослинної сировини поміщають у колбу 1, доливають 300 мл води, колбу приєднують через шліф із трубкою, що проводить пару, і заповнюють водою градуйовану трубку через кран за допомогою шлангу, що закінчується лійкою. Вміст колби нагрівають до бурхливого кипіння і кип'ятять з інтенсивністю, при якій швидкість скапування дистилату повинна бути 60 – 65 крапель за 1 хвилину протягом часу, зазначеного у відповідних статтях для кожного виду сировини. Через 5 хвилин після закінчення перегонки заміряють об'єм ефірної олії в градуйованій частині приймача. Для цього відчиняють кран і спускають частину дистилату до рівня поділок градуйованої трубки. Відсотковий вміст ефірної олії обчислюють, як зазначено в методі 1.

Метод 2б. Наважку подрібненої рослинної сировини поміщають у колбу 1, доливають 300 мл води, колбу приєднують через шліф із трубкою, що проводить пару, і заповнюють водою градуйовану трубку через кран за допомогою гумового шлангу, що закінчується лійкою.

Потім через повітряну трубку 7 за допомогою піпетки доливають у приймач 0,5 мл декаліну і точно заміряють об'єм узятого декаліну, опускаючи рівень рідини в градуйовану частину трубки приймача. Подальший аналіз проводять, як зазначено в методі 2а.

Обчислюють вміст ефірної олії в об'ємно-вагових відсотках x за формулою:

$$x = \frac{(V - V_1) \times 100 \times 100}{m(100 - \omega)}$$

де V — об'єм розчину ефірного масла в декаліні, мл; V_1 — об'єм декаліну, мл; m — маса наважки сировини, г; ω — втрата в масі сировини при висушуванні, %.

Метод 3. Для визначення ефірного масла даним методом використовують прилад, зображений на рис. 3.

Прилад складається з круглодонної колби з коротким горлом 1 місткістю 1000 мл, трубки 2, що проводить пару, холодильника 3, відстійника 4 із термометром до 100⁰С 5, ртутна кулька якого знаходиться на рівні отвору холодильника, градуйованої трубки 6 із ціною поділки 0,001 мл, зливного крана

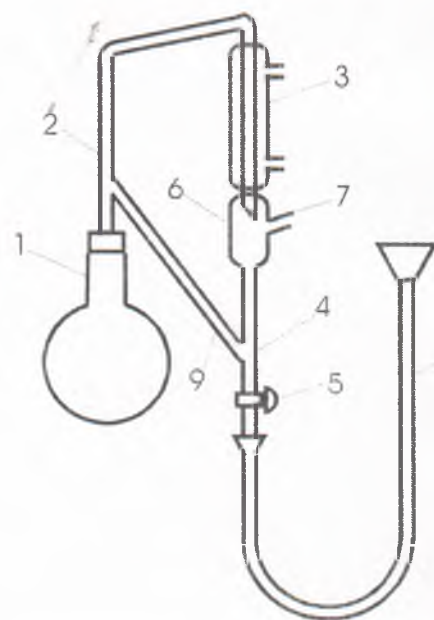


Рис. 2

7 і зливальної трубки 8. Для заповнення приладу водою використовується гумова трубка 9 із внутрішнім діаметром 4,5 — 5 мм, довжиною 450 мм і лійкою 10 з діаметром 30 — 40 мм.

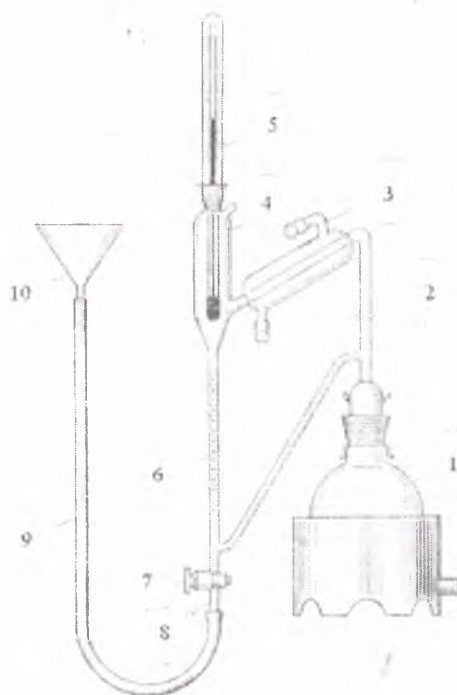


Рис. 3

Перед кожним визначенням через прилад пропускають пару протягом 15 — 20 хвилин. Після 6 — 8 визначень прилад послідовно промивають ацетоном і водою.

Наважку сировини помішають у колбу, додають необхідну кількість води. Колбу з'єднують із трубкою, що проводить пар, і заповнюють водою градуйовану і зливальну трубки через кран за допомогою гумової трубки, що закінчується лійкою доти, доки в нижній воронкоподібній частині відстійника не збереться шар води висотою 8 — 12 мм. Під час перегонки цей рівень води повинен залишатися без зміни. Колбу нагрівають і кип'ятять протягом часу зазначеного в АНД на лікарську рослинну сировину. Під час перегонки температура у відстійнику на повинна перевищувати 25⁰С. Через 5 хвилин після закінчення перегонки відчиняють кран, поступово зливаючи дистилят так, щоб ефірна олія зайняла градуйовану частину трубки. Ще через 5 хвилин заміряють об'єм ефірної олії.

Вміст ефірної олії в об'ємно-вагових відсотках x у перерахунку на абсолютно суху сировину обчислюють за формулою:

$$X = \frac{V \times 100 \times 100}{m(100 - \omega)}$$

де V — об'єм ефірної олії, мл; m — маса наважки сировини, г; ω — втрата в масі сировини при висушуванні, %.

Дослідження ефірних олій

До етапів дослідження ефірних олій відносяться: визначення відсутності домішок, встановлення її дійсності і якості за допомогою органолептичної оцінки (визначення кольору, запаху, смаку, прозорості, консистенції), фізичних і хімічних констант.

До фізичних констант належать питома вага, кут обертання, показник заломлення і розчинність у спирті. З хімічних констант основними є кислотне число (КЧ), ефірне число (ЕЧ) та ефірне число після ацетилювання (ЕЧ п.а.). Числові значення констант (межі) для олій встановлюють за Фармакопесю та іншими стандартами.

Колір (прозорість) встановлюють, помістивши 10 мл олії в циліндр із прозорого незабарвленого скла діаметром 2 – 3 см спостерігаючи у світлі, що проходить крізь скляний циліндр.

Запах визначають наступним способом: 0,1 мл (2 краплі) олії наносять на смужку фільтрувального паперу довжиною біля 12 см і шириною 3 см так, щоб олія не змочувала країв паперу, і порівнюють запах аналітичного зразка через кожні 15 хвилин із запахом контрольного зразка, нанесеного таким же чином на фільтрувальний папір. Протягом однієї години запах повинен бути однаковий із запахом контрольного зразка.

Смак встановлюють, прикладаючи до язика смужку фільтрувального паперу з нанесеною на неї краплею олії або крупинку суміші 1 г цукрової пудри з 1 краплею випробуваною олією.

Температуру застигання визначають у спеціальному приладі, що складається із ємності з охолоджуючою сумішшю, в яку поміщають пробірку з випробуваною олією. Висота шару олії повинна складати не менше 5 см. За допомогою термометра визначають найбільш високу температуру, що залишається короткий час постійною з моменту застигання речовини і приймають її за температуру застигання.

Визначення домішок

Спирт етиловий. Декілька крапель випробуваної олії наносять на воду, налиту на годинникове скло, і спостерігають на чорному тлі; не повинно бути помітного помутніння навколо краплі олії.

1 мл випробуваної олії наливають у пробірку, закривають пухким ватним тампоном у середині якого поміщають кристал фуксину, підігривають до кипіння; при наявності спирту його пари розчиняють фуксин, зафарбовуючи вагу в червоний колір.

Жирні та мінеральні олії. 1 мл ефірної олії збовтують у пробірці з 10 мл 90% етилового спирту; не повинно з'являтися каламуті і жирних крапель.

Числові показники

Питома вага. Питоною вагою (ПВ) називають масу одиниці об'єму речовини. Якщо масу ефірної олії вимірювати в грамах, а об'єм V у кубічних сантиметрах, то питома вага буде являти собою масу 1см^3 ($[\rho] = \text{г/см}^3$).

Питома вага однієї й тієї ж самої ефірної олії може змінюватися залежно від стадії розвитку рослини, методу одержання, умов і тривалості зберігання. Тобто за відхиленнями від встановлених меж ПВ можна судити про доброякісність олії. Наприклад, зменшення ПВ може свідчити про зменшення кількості кисневих сполук, що звичайно буває, коли ефірну олію одержано з передчасно зібраної сировини. Навпаки, більш висока ПВ свідчить про „осмолювання” олії внаслідок окислення її киснем повітря.

Визначення питомої ваги проводять за допомогою пікнометру або ареометру. Чистий сухий пікнометр зважують із точністю до $0,0002$ г, заповнюють за допомогою маленької лійки дистильованою водою трохи вище мітки, закривають короком і витримують протягом 20 хвилин у термостаті, де підтримують постійну температуру води 20°C з точністю до $0,1^{\circ}\text{C}$. При цій температурі рівень води в пікнометрі доводять до мітки, швидко відбираючи надлишок води в пікнометрі за допомогою піпетки або згорнутого в смужку фільтрувального паперу. Пікнометр знову закривають короком і витримують у термостаті ще 10 хвилин. Перевіряючи положення меніску стосовно мітки. Потім пікнометр виймають із термостата, фільтрувальним папером витирають внутрішню поверхню горлечка пікнометра, а також весь пікнометр зовні, залишають під склом аналітичних вагів протягом 10 хвилин. Зважують з попередньою точністю.

Пікнометр звільняють від води, висушують, обмивають послідовно спиртом та ефіром (сушити пікнометр шляхом нагрівання не допустимо), видаляють залишки ефіру продуванням повітря, заповнюють пікнометр випробуваною рідиною і потім повторюють ті ж операції з ефірною олією, що і з водою.

Питому вагу ρ_{20} (г/см^3) обчислюють за формулою:

$$\rho_{20} = \frac{(m_2 - m) \times 0,99703}{m_1 - m} + 0,0012,$$

де m – маса порожнього пікнометра в г; m_2 – маса пікнометра з випробуваною рідиною в г; m_1 – маса пікнометра з дистильованою водою в г; $0,99703$ – значення питомої ваги води при 20°C ; $0,0012$ – питома вага повітря при 20°C і барометричному тиску 1011Па .

Показник заломлення визначають за допомогою рефрактометра.

Показником заломлення називають відношення швидкості поширення світла в повітрі до швидкості поширення світла у випробуваному розчині. Показник заломлення залежить від природи речовини, температури і довжини хвилі світла.

Час від часу рефрактометр необхідно перевірити за допомогою води, що має показник заломлення $0,3330$ при 20°C .

Для *Oleum Menthae piperitae* показник переломлення повинен бути 1,459-1,470, для *Oleum Eucalypti* – 1,458- 1,470.

Висока рефракція свідчить про значний вміст кисневмісних сполук. При тривалому зберіганні через полімеризацію, окислення та інші процеси, що відбуваються в ефірній олії, рефракція збільшується.

Кут обертання площини поляризації. Оскільки ефірна олія – це суміш оптично активних речовин, то кут обертання є алгебраїчною сумою кутів обертання компонентів даної суміші. Та в ряді випадків, коли в складі ефірної олії значно переважає той чи інший компонент, ця константа може свідчити про якість олії.

Розчинність у спирті. Розчинність в етиловому спирті (міцному або 70%) також дає уявлення про якість олії. Більшість вуглеводнів погано розчинні в спирті, особливо розведеному, тому за розчинністю в спирті можна судити про їх відносну кількість в олії. Відхилення від звичайних норм свідчить про низьку якість олії або про домішки вуглеводнів.

Кислотне число – показує кількість міліграмів гідроксиду калію, необхідне для нейтралізації вільних кислот, що містяться у 1 г ефірної олії. Ця важлива константа, як правило, невелика (0,5 – 5,0) , але при тривалому зберіганні в результаті окисних процесів кількість кислот збільшується внаслідок розкладення складних ефірів.

Пробу ефірної олії 1,5 – 2,0 г (взяту з точністю до 0,01 г) розчиняють у 5 мл 95 % етилового спирту, попередньо нейтралізованого за фенолфталеїном 0,1 н NaOH. Додають 1 мл розчину фенолфталеїну і титрують при постійному перемішуванні 0,1 н NaOH до появи рожевого забарвлення, що не зникає протягом 30 секунд. 1 мл 0,1 н NaOH відповідає 5,61 мг КОН. Кислотне число обчислюють за формулою:

$$X = \frac{V \cdot 5.61}{m}$$

де V — об'єм 0,1 н NaOH, витрачений на титрування, мл; m — маса наважки ефірної олії, г.

Ефірне число є показником кількості міліграмів гідроксиду калію, яка витрачається для омилення складних ефірів, що містяться в 1г ефірної олії. Це дуже важлива константа, оскільки аромат ефірних олій зумовлюється саме складними ефірами.

Ефірне число визначають у розчині, утвореному після визначення кислотного числа. До розчину додають 20 мл 0,5 н спиртового розчину їдкового калію і нагрівають на водянім нагрівнику в колбі з повітряним холодильником (скляна трубка діаметром 10 мм і довжиною 1 м) протягом 1 години, відраховуючи з моменту закипання. Після закінчення омилення розчин розбавляють 100 мл води і надлишок їдкового калію відтитрують 0,5 н. розчином сірчаної кислоти (індикатор фенолфталеїн). Ефірне число розраховують за формулою:

$$X = \frac{28.05 \cdot V}{m}$$

де V - кількість мілілітрів 0,5 н розчину їдкого калію, витрачена на омилення ефірів; m - наважка олії в грамах; 28,05 – кількість міліграмів їдкого калію, що міститься в 1 мл спиртового розчину їдкого калію (0,5 моль/л).

Ефірне число після ацетилювання визначають в тих ефірних оліях, якість яких характеризується кількістю спиртів, таких як ліналоол, гераніол, цитронелол та ін.

Ефірне число після ацетилювання виражається кількістю міліграмів їдкого калію, яка потрібна для омилення складних ефірів, що містилися в 1г масла спочатку перед ацетилюванням і тих, що утворилися після ацетилювання. Його визначають таким чином: до 10мл олії внесеної в спеціальну колбу для ацетилювання з пришліфованим повітряним холодильником, доливають 10мл оцтового ангідриду і додають близько 2г безводного ацетату натрію. Суміш кип'ячать на піщаній бані протягом 2год. Після охолодження додають 20мл води і нагрівають на водянім нагрівнику при частому збовтуванні протягом 10-15хв., щоб перевести оцтовий ангідрид, який не вступив в реакцію в оцтову кислоту. Потім суміш переносять у ділильну лійку місткістю 100мл і відокремлюють шар олії. Олію промивають, збовтуючи 50мл насиченого розчину хлориду натрію (в кілька прийомів) до нейтральної реакції промивних вод (індикатор метилоранж). Після цього олію промивають 20мл води, щоб видалити сліди хлориду натрію. Промиту олію зневоднюють безводним сульфатом натрію і фільтрують. У конічній колбі зважують 1,5 – 2 г олії (з точністю до 0,01г) розчиняють її в 5мл спирту і нейтралізують 0,5н спиртовим розчином їдкого калію (індикатор фенолфталеїн). Після нейтралізації додають 25мл 0,5н спиртового розчину їдкого калію і визначають ефірне число (як описано вище). Визначення повторюють двічі і беруть середнє з них.

Вміст складних ефірів або зв'язаних спиртів обчислюють у процентах за формулою:

$$X = \frac{\text{ефірне} \cdot \text{число} \times M}{561}$$

де X – вміст складних ефірів, %; M – молекулярна вага ефіру або спирту.

Вміст вільних спиртів X обчислюють у процентах за формулою:

$$X = \frac{\text{ефірне} \cdot \text{число} \cdot \text{після} \cdot \text{ацетилювання} - \text{ефірне} \cdot \text{число}}{561 - 0.42(\text{ефірне} \cdot \text{число} \cdot \text{після} \cdot \text{ацетилювання} - \text{ефірне} \cdot \text{число})}$$

Загальний вміст спиртів визначається сумою зв'язаних і вільних спиртів.

Якісний та кількісний аналіз окремих компонентів ефірної олії.

Хроматографічне дослідження наявності в ефірних оліях простих фенолів із вільним пара-розташуванням .

Хроматографія в тонкому шарі сорбенту. На стартову лінію хроматографічної платівки (“Sorbfil” або „Silufol”), що знаходиться на відстані

2 см від нижнього краю, наносять капіляром по 10 мкл (один дотик капіляром) на відстані 1,0 см одна від одної проби досліджуваних ефірних олій та 0,1% спиртові розчини тимолу та карвакролу, що служитимуть свідками. Відстань від бічного краю хроматографічної платівки – 1,5 см. Діаметр плям не повинен перевищувати 5 мм. Після висушування платівку поміщають у хроматографічну камеру, у котру попередньо налита розподільна система: гексан-бензол-метанол (5:4:1). Експозиція 10-15 хв. Після ретельного висушування отриману хроматограму обробляють 2,6-дихлорхінонхлоримідом та 10% спиртовим розчином КОН. Поява синіх або синьо-фіолетових плям свідчить про наявність у складі досліджуваного ефірного масла простих фенолів з вільним пара-розташуванням.

Кількісне визначення суми фенолів в ефірних оліях.

Вміст фенолів визначають наступним чином: у Касієву колбу місткістю 200 -250мл з шийкою, градуйованою на 7мл (з поділками по 0,1мл), вносять піпеткою 5мл випробуваної олії і 150мл 15% -ного їдкого натру; вміст збовтують протягом 15хв. Відстоєне масло вводять у градуйовану шийку, доливаючи той самий розчин їдкого натру. Визначається об'єм ефірної олії, що не прореагувала із лугом. Процентний вміст фенолів X в зразку розраховують за формулою:

$$X = \frac{V - V_1}{V} \cdot 100\%,$$

де V – об'єм ефірної олії, взятий для аналізу (5,0 мл); V_1 – об'єм ефірної олії, що не прореагувала із лугом.

Кількісне визначення простих фенолів із вільним пара-розташуванням в ефірній олії чебрецю.

У пікнометр на 3,0 мл мікрошприцем вносять 10 мкл ефірної олії. Етиловим спиртом міцністю 96⁰ доводять до мітки, перемішують (розведення 1:300). Отриманий розчин переносять у скляний бюкс із притертим корком. Мікропіпеткою на 0,2 мл беруть 0,1 мл розведення і поміщають в вимірювальну колбу на 25,0 мл., додають 5,0 мл 96⁰ етанолу, 5,0 мл 0,1% розчину 2,6-дихлорхінонхлориміду і доводять до мітки 0,1 н розчином їдкого натрію. Колбу закривають корком, розчин добре перемішують і через 10 хвилин вимірюють оптичну густину на фотоколориметрі КФК-3 при довжині хвилі 590 нм навпроти холостої проби, яка не містить розчину ефірної олії.

Розрахунок концентрації простих фенолів із вільним пара-розташуванням поводять за формулою:

$$X = \frac{D \times 0.16 \times K}{D_0},$$

де X – кількість простих фенолів із вільним пара-розташуванням, %; D – оптична густина досліджуваного розчину; D_0 – оптична густина стандартного розчину; K – розведення ефірної олії.

Приготування стандартного розчину. На аналітичних вагах береться наважка тимолу-стандарту $4,0 \pm 0,0001$ г. Кількісно переноситься у вимірювальну колбу на 100,0 мл і доводиться до мітки 96⁰ етанолом. Вміст колби добре перемішують. 1,0 мл отриманого розчину, що містить 0,04 г тимолу вносять у вимірювальну колбу на 25,0 мл і також доводять до мітки 96⁰ етанолом. 0,1 мл отриманого розчину, який містить 0,00016 г тимолу переносять в колбу на 25,0 мл, додають 5,0 мл 96⁰ етанолу, 5,0 мл 0,1% розчину 2,6-дихлорхінонхлориміду і доводять до мітки 0,1 н розчином їдкою натрію. Колбу закривають корком, розчин добре перемішують і через 10 хвилин вимірюють оптичну густину на фотоколориметрі КФК-3 при довжині хвилі 590 нм навпроти холостої проби, яка не містить розчину ефірної олії.

Контрольні питання

1. Класифікація рослинних терпенів.
2. Ефірні олії. Класифікація речовин, що входять до складу ефірних олій (приклади формул із кожної групи).
3. Фізіологічна активність ефірних олій.
4. Значення ефірних олій для рослин і закономірності їх накопичення.
5. Локалізація ефірних олій в рослинах.
6. Біохімічні процеси, що протікають у сировині перед виділенням із нього ефірних олій.
7. Методи одержання ефірних олій із рослинної лікарської сировини.
8. Методи кількісного визначення ефірної олії в рослинах.
9. Параметри, за якими проводиться визначення якості ефірної олії.
10. Методи визначення органолептичних властивостей ефірних олій.
11. Фізичні методи дослідження ефірних олій.
12. Сутність методів стандартизації ефірних олій за хімічними показниками.
13. Сутність методів визначення якісного складу ефірних олій.