

STANOVENÍ CHOLESTEROLU V OLEJÍCH

Cholesterol je steroidní alkohol, nejvýznamnější steroidní sloučenina vyšších živočichů; patří mezi isoprenoidy. U člověka je syntetizován téměř ve všech tkáních (zejména v játrech); je obsažen v buněčných membránách (v mozku 10 % sušiny) a v krevních lipoproteinech (asi 2 mg/ml krve), a to jak volný, tak ve formě esterů s vyššími mastnými kyselinami. Snižuje fluiditu membrán, a tím i jejich propustnost pro malé molekuly. Je prekurzorem biosyntézy steroidních hormonů. Jeho biodegradace probíhá v játrech, kde z něj vznikají tzv. žlučové kyseliny. Ukládání cholesterolu v cévách a tvorba žlučových kamenů jsou patologické; zvýšená hodnota koncentrace cholesterolu v krevní plasmě je jedním z ukazatelů rizika vzniku aterosklerózy, a tím i srdečních a cévních chorob (např. infarktu myokardu). Rizikový je zvláště LDL-cholesterol, zatímco HDL-cholesterol má naopak význam ochranný.

Princip stanovení:

Cholesterol reaguje se silnou kyselinou (sírovou) a acetanhydridem za vzniku barevné sloučeniny (cholestahehexan-sulfonová kyselina).

Roztoky a pomůcky:

kyselina octová
acetanhydrid
kyselina sírová
skleněné pipety
pístové mikropipety
zkumavky
stojánek na zkumavky

Postup měření:

Kalibrace:

Připravte si 5 ml zásobního roztoku cholesterolu o koncentraci 20 mmol/l v kyselině octové (dobře se rozpouští při zahřátí). (M(chol) je 386,7 g/mol). Dále si připravte kalibrační řadu o koncentracích 1, 2, 5, 10, 20 mmol/l. Každého kalibračního roztoku si připravte 200 μ l.

Do zkumavek odpipetujte 100 μ l z připravených kalibračních roztoků, přidejte 1,5 ml roztoku kyseliny octové a acetanhydridu (1:5). Směsi promíchejte a zkumavky temperujte 5 min ve vodní lázni s teplotou 20°C. Po temperaci přidejte do každé zkumavky 300 μ l 96% kyseliny sírové, opět promíchejte a zkumavky temperujte 10 min ve vodní lázni s teplotou 20°C. Po temperaci změřte absorbanci jednotlivých roztoků proti blanku při vlnové délce 575 nm. Měření je nutné dokončit 30 min po závěrečné temperaci.

Stanovení obsahu cholesterolu v neznámém vzorku:

Z neznámých vzorků odpipetujte 100 μ l a dále pracujte stejným způsobem jako při měření kalibrační přímky.

Pomocí kalibrační přímky stanovte koncentrace cholesterolu v neznámých vzorcích.



Výsledek:

C (chol) [mmol/l]	V zás. roztoku cholesterolu [ml]	V ředícího roztoku (kys. octová) [ml]	A 575 nm
1			
2			
5			
10			
20			
blank			

Závěr:

Koncentrace cholesterolu v neznámém vzorku:

