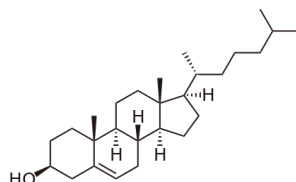


## Ćwiczenie nr 1

### Oznaczanie cholesterolu

**CHOLESTEROL** (Rys.1),  $C_{27}H_{46}O$ , organiczny związek, lipid z grupy steroidów (tj. związków posiadających układ cyklopentano-perhydrofenantrenu).



Rys.1. Częsteczka cholesterolu

Pod względem chemicznym cholesterol jest alkoholem i może tworzyć estry z kwasami tłuszczowymi. Cholesterol ulega reakcjom, charakterystycznym dla posiadanych grup funkcyjnych. Stąd będzie reagował jak alkohole (grupa hydroksylowa przy trzecim atomie węgla) lub jak alkeny (wiązanie podwójne między piątym i szóstym atomem węgla).

Z biologicznego punktu widzenia cholesterol jest połączeniem białek i lipidów, tzw. lipoprotein, czyli substancji tłuszczowo-białkowych. Wyróżniamy 2 rodzaje lipoprotein, tj. LDL: niskiej gęstości (tzw. „zły” cholesterol) oraz HDL: wysokiej gęstości (tzw. „dobry” cholesterol). Są one formą transportową cholesterolu.

Cholesterol występuje w organizmie człowieka i pochodzi częściowo z pokarmu, w większości jednak jest syntetyzowany we własnych komórkach. Cholesterol jest niezbędny do produkcji licznych hormonów, kwasów żółciowych oraz witaminy D. Jest to substancja ważna dla prawidłowego funkcjonowania organizmu, jednak tylko niewielka jego część zaspokaja zapotrzebowanie. Nadmiar cholesterolu przyczynia się do rozwoju miażdżycy.

**Celem ćwiczenia** jest oznaczenie stężenia cholesterolu całkowitego w próbkach żywności metodą Pearsona, Steina i McGaracka.

Istnieje możliwość zbadania próbek żywności przyniesionych przez studentów – patrz tabela zawartości cholesterolu w produktach spożywczych.

#### 1. Zasada oznaczenia:

Cholesterol w obecności kwasu p-toluenosulfonowego, bezwodnika kwasu octowego i kwasu siarkowego daje zielone zabarwienie.

#### Odczynniki:

- bezwodnik kwasu octowego
- 12% kwas p-toluenosulfonowy w lodowatym kwasie octowym
- wzorzec cholesterolu 200 mg/100 cm<sup>3</sup> lodowatego kwasu octowego
- stężony kwas siarkowy
- kwas octowy lodowaty
- alkohol etylowy

#### 2. Wykonanie oznaczenia:

##### 2.1. Przygotowanie badanej próbki

Badaną próbkę (0,5 g) rozpuścić bądź wyekstrahować etanolem (5 cm<sup>3</sup>). Roztwór przesączyć przez bibułę filtracyjną.

## 2.2. Przygotowanie roztworów do analizy

Przygotować cztery próbki i oznaczyć je jako: 1) ślepa próba, 2) wzorzec, 3) i 4) próbka (oznaczenie wykonać w dwóch powtórzeniach). Do próbek (ślepa, wzorzec) odmierzyć 0,200 cm<sup>3</sup> wody destylowanej oraz 0,200 cm<sup>3</sup> kwasu octowego. Do próbki (wzorzec) odmierzyć 0,200 cm<sup>3</sup> wzorca cholesterolu. Do próbek (próbka) odmierzyć 0,200 cm<sup>3</sup> uprzednio przygotowanego ekstraktu cholesterolu oraz 0,200 ml kwasu octowego.

Do wszystkich próbek dodać po 1 cm<sup>3</sup> kwasu p-toluenosulfonowego i po 3 cm<sup>3</sup> bezwodnika kwasu octowego (UWAGA na reakcję egzotermiczną). Zawartość próbek delikatnie zamieszać, pozostawić do ochłodzenia do temperatury pokojowej. Następnie do wszystkich próbek dodać (ostrożnie) 0,5 cm<sup>3</sup> stężonego kwasu siarkowego. Zawartości próbek delikatnie zamieszać i odstawić na około 20 min.

## 2.3. Wykonanie oznaczeń spektrofotometrycznych

Zmierzyć absorbancję roztworów przy długości 550 nm względem ślepej próby. Wykorzystując metodę porównania z pojedynczym wzorcem obliczyć zawartość cholesterolu w analizowanej próbce. W obliczeniach przyjąć addytywność objętości. Wynik proszę podać w mg/100 g produktu.

## Zagadnienia do kartkówki

- cholesterol: rola i źródła w ludzkiej diecie, rodzaje cholesterolu, budowa, reakcje chemiczne, metody oznaczenia
- tłuszcze: podział, budowa, reakcje

**Tabela 1. Orientacyjna zawartość cholesterolu w produktach spożywczych.**

Produkt spożywczy	mg/100g produktu	Produkt spożywczy	mg/100g produktu
Smalec	92	Mózg barani gotowany	2200
Łój wołowy	109	Nerki baranie	610
Bekon surowy	57	Nerki wieprzowe	700
Indyki surowe	81	Nerki wołowe	690
Indyki pieczone	100	Ozory wieprzowe gotowe do spożycia	101
Kurczaki	160	Ozory cielęce gotowe do spożycia	100
Kurczaki surowe	110	Ozory wołowe gotowe do spożycia	180
Kurczaki pieczone	120	Płuca surowe	>2000
Masło śmietankowe	220	Serca wołowe i cielęce gotowe do spożycia	150
Mięso baranie surowe	79	Serca wieprzowe gotowe do spożycia	150
Mięso baranie gotowane	110	Śmietana 12-procentowa	39
Mięso wieprzowe surowe	72	Śmietana 18-procentowa	56
Mięso wieprzowe gotowe do spożycia	110	Wątroba cielęca	370
Mięso wołowe surowe	65	Wątroba barania	430
Mięso wołowe gotowe do spożycia	82	Wątroba wieprzowa	290
Mięso cielęce gotowe do spożycia	71	Wątroba wołowa	270
Mięso zająca gotowe do spożycia do spożycia	60	Szynka	33
Mleko 2%	8	Salami	79
Mleko pełnotłuste	13	Żółtko jaja (w 1 jajku około 300 mg)	1790
Mózg cielęcy i barani	3100		1

## Literatura:

1. „Wybrane metody z chemii klinicznej” pod red. W. Ostrowskiego. Wyd. PZWL, Warszawa 1968.
2. „Żywność człowieka. Podstawy nauki o żywieniu” pod red. J. Gawęckiego i L. Hryniewieckiego. Wyd. PWN. Warszawa 2003.