

Лабораторна робота №15

ВИЗНАЧЕННЯ КОНЦЕНТРАЦІЇ ЗАГАЛЬНОГО ХОЛЕСТЕРОЛУ В БІОЛОГІЧНИХ РІДИНАХ ЗА МЕТОДОМ ІЛЬКА

Мета роботи: засвоїти метод визначення концентрації холестеролу в біологічних рідинах за методом Ілька.

Практичне значення роботи: найчастіше показником ліпідного обміну є концентрація холестеролу, який може накопичуватися в крові.

Підвищення концентрації холестеролу спостерігається при атеросклерозі, цукровому діабеті, вроджених порушеннях обміну, захворюваннях печінки.

Матеріал: сироватка.

Реактиви: реагент на холестерол (карбоневий ангідрид – 75-85%, оцтова кислота –15-25%), калібрувальний розчин холестеролу ($4,665 \pm 0,2328$ ммоль/л), концентрована сульфатна кислота, дистильована вода, фізіологічний розчин (0,9%-ий розчин натрій хлориду).

Приготування робочих розчинів.

Робочий розчин. Вміст флакона з реактивом на холестерол перенести до термостійкої колби місткістю 200 мл та поступово додати, при охолодженні холодною водою, і перемішуванні, 9 мл сульфатної кислоти з флакона. Реактив, що отримали, повинен бути безбарвним або блідо-жовтим. Зберігається впродовж одного тижня у холодильнику в склянці із темного скла з добре притертою скляною пробкою. Якщо реактив набуде жовтого кольору, то він не придатний до використання.

Калібрувальний розчин холестеролу – придатний до використання.

Після розкриття ампули реактив зберігають у холодильнику в посуді з добре притертою скляною або пластмасовою пробкою. При збереженні в герметичній ємності розчин стійкий. Концентрація холестеролу в розчині ($4,665 \pm 0,2328$ ммоль/л або $1,8 \pm 0,09$ мг/мл).

Хід роботи

Аналіз проводиться у відповідності зі схемою, наведеною у таблиці 19.

Принцип методу: холестерол в присутності карбоневого ангідриду та суміші оцтової та сульфатної кислот утворює комплекс *зеленого забарвлення*, що визначається фотометрично при довжині хвилі 590-630 нм.

Робоча схема проведення дослідів, щодо визначення концентрації холестеролу в біологічних рідинах за методом Ілька

Робочий розчин (мл)	Фізіологічний розчин (мл)	Калібрувальний розчин холестеролу (мл)	Матеріал, що аналізують (мл)	Показники оптичної щільності	
				Е калібрувальної проби	Е дослідної проби
Холоста проба (контрольна проба)					
4,30	0,1	–	–	–	–
Калібрувальна проба					
4,30	–	0,1	–	–	–
Дослідна проба (1, 2, 3, ... 10)*					
4,30	–	–	0,1	–	–

Примітка. * – кількість дослідних проб повинна коливатися від 3-х до 10-и відповідно до достовірності результатів, мінімум 1, 2, 3.

Окремо холосту пробу (контрольну пробу), калібрувальну пробу, холосту пробу струшують 10-12 разів та витримують у термостаті при температурі плюс 37 °С впродовж 20 хв. Забарвлення стійке впродовж 20 хв.

Проти холостої проби вимірюють оптичну щільність калібрувальної проби (Е калібрувальної проби) та дослідної проби (Е дослідної проби).

Розрахунок концентрації холестеролу (С, ммоль/л) здійснюють за формулою:

$$C = 4,665 \cdot E \text{ дослідної проби} / E \text{ калібрувальної проби}$$

де: 4,665 – концентрація холестеролу у калібрувальному розчині, ммоль/л;

Е дослідної проби – оптична щільність дослідної проби;

Е калібрувальної проби – оптична щільність калібрувальної проби

Контроль якості: достовірність одержуваних результатів контролюють за допомогою атестованих контрольних сироваток «Ліонорм» (Чехія) або «Біоконт С» (Росія).

Нормальна концентрація холестеролу у сироватці венозної крові складає 3,08-5,18 ммоль/л (у віці від 15-19 років); 3,16-5,59 ммоль/л (у віці від 20-24 років).

За результатами лабораторної роботи зробіть загальний висновок.

📌 Завдання для домашнього виконання:

Скласти **схему метаболізму ліпідів** на окремому аркуші, що включає: перетравлення ліпідів у шлунково-кишковому тракті; β -окиснення вищих жирних кислот; окиснення гліцеролу; синтез холестеролу.

? Питання для самоконтролю

1. Окиснення гліцеролу: реакції, ферменти.
2. Синтез холестеролу: реакції, ферменти.
3. Зв'язок між обміном білків, вуглеводів та ліпідів. Наведіть приклади реакцій.