

BAZI ÇÖZÜCÜLERİN SERUM TOTAL KOLESTEROL MİKTAR TAYİNİNE ETKİLERİ

Cemil ROTA *

İlhan ARAL **

Serumdaki total kolesterol tayinde kullanılan metodlar 2 gruba ayrılabilir. Birinci gruptaki metodlarda seruma renk reaktifleri konarak total kolesterol miktarı ölçülür (1). İkinci gruptaki metodlarda total kolesterol çözücülerle serumdan ekstrakte edilir ve bu ekstrakt üzerinde miktar tayini yapılır (2).

Kolesterolün ekstraksiyonu için lipid-protein bağının kopması ve tüm kolesterolün çözücüye geçmesi gerekir. Kullanılan başlıca çözücüler izopropanol, kloroform, alkol, aseton, eter, metanol, karbontetraklorür v.b. dir. Ekstraksiyon esnasında ısıdan da istifade edilir. Çok kullanılan çözücülerden biri Bloor'un etanol-eter (3v/1 v) karışımıdır.

Takip eden çalışmada bazı çözücülerin ve çözücü karışımlarının serum total kolesterolünü ekstrakte etmelerini tetkik ettik.

METOD VE MATERYEL

Bu çalışmada SACKETT metodunu (3) aynen kullandık. Bu metotta Bloor çözücüsü (etanol-eter 3 v/1 v) ile serumdaki lipidler ekstrakte edilir. Ekstrakta renk reaksiyonu tatbik edilerek total kolesterol miktarı ölçülür.

Biz SACKETT metodunun ekstraksiyon kısmında çeşitli çözücülerini kullandık. Renk reaksiyonu kısmını ise aynen tatbik ettik.

* A.Ü. Tıp Fakültesi Biyokimya ve Kimya Kürsüsü Profesörü,

** A.Ü. Tıp Fakültesi Biyokimya ve Kimya Kürsüsü Asistanı.

Serum total kolesterolunun ekstraksiyonu :

Cam kapaklı santrifüj tüpünde 10 ml. çözücü takibinde 0,2 ml serum konur. Tüp 1 dakika alt üst edildikten sonra santrifüj edilir. Tüpteki sıvı kısmının tümü deney tüpüne aktarılır.

Renk reaksiyonu : Deney tüpüne aktarılan çözücü kum banyosunda uçurulur. Denediğimiz çözücüler tek olarak veya birbirleriyle belli oranlarda karıştırılarak kullanıldı.

Kuru ekstrakt 5 ml. kloroformda çözündürülür, sırası ile 2 ml. asetik anhidr ve 0,1 ml. derişik sülfürik asit konur. Tüp alt üst edilerek reaktifler karıştırılır. Spektrofotometrede 10 dakika sonra kör deneye karşı 415 nm. de okunur. Kör deney olarak 5 ml. kloroform kullanılır. Kloroformda % 300 mg. kolesterol standart solusyonundan 5 ml. alarak deneye sokuldu.

SONUÇLAR

Denediğimiz çözücü ve çözücü karışımlarına ait neticeleri tablolar halinde gösterdik. Tabloların her biri ayrı bir seruma aittir. Tablo içindeki % mg. kolesterol miktarları aynı tablodaki diğer kolesterol % mg. ları ile kıyaslanabilir, diğer tablolardaki neticelerle karşılaştırılmaz.

Tablo : 1
Alkol ve alkol - eter çözücüleri

% 96 etanol	TOTAL KOLESTEROL
	% 186 mg.
% 96 etanol-eter (3 v/1 v) Bloor)	% 144 mg.
% 96 etanol-eter (2 v/2 v)	% 140 mg.
% 96 etanol-eter (1 v/3 v)	% 140 mg.

Tablo 1 — Neticelerin herbiri 3 deneyin ortalamasıdır.

Tablo : 2

Metanol, metanol - kloroform ve alkol - eter çözücülleri

METANOL	TOTAL KOLESTEROL
	% 187 mg.
METANOL-kloro form (1 v/2 v)	% 211 mg.
Metanol-kloroform (2 v/1 v)	% 205 mg.
Alkol-eter (Bloor) (3 v/1 v)	% 188 mg.

Tablo 2 — Neticelerin herbiri 3 deneyin
ortalamasıdır.

Tablo : 3

% 96 etanol ve metanol - kloroform
çözüleri

% 96 Etanol	TOTAL KOLESTEROL
	% 262 mg.
metanol-kloroform (1 v/1 v)	% 241 mg.
metanol-kloroform (2 v/1 v)	% 236 mg.
metanol-kloroform (1 v/2 v)	% 234. mg.

Tablo 3 — Neticelerin herbiri 3 deneyin
ortalamasıdır.

Tablo : 4
% 96 etanol ve % 96 etanol-kloroform
çözüleri

% 96 Etanol	TOTAL KOLESTEROL
	% 194 mg.
Etanol-kloroform (1 v/1 v)	% 176 mg.
Etanol-kloroform (2 v/1 v)	% 169 mg.
Etanol-kloroform (1 v/2 v)	% 140 mg.

Tablo 4 — Neticelerin herbiri 3 deneyin ortalamasıdır.

Tablolardakinden başka çözücüleride kullandık. Hexan ve petrol eterinin serumdaki kolesterolu ekstrakte etmediğini gördük. Yalnız kloroform kullanıldığında serumdaki kolesterolun çok azı bu çözücüye geçmekteir.

TARTIŞMA

Total kolesterol tayininde bu maddeyi serumdan ekstrakte etmek için çeşitli çözücülerden istifade edilir. Bloor'un etanol-eter (3 v/1 v) karışımı ekseri metodlarda kullanılır.

Tablo 1 de etanol ve değişik nisbetlerde hazırlanmış etanol-eter karışımlarının neticeleri bize en fazla kolesterolun % 96 etanol tarafından ekstrakte edildiğini göstermektedir. Bloor'un etanol-eter karışımı ise % 96 etanole nazaran % 22 daha az kolesterol ekstrakte etmiştir. Bloor karışımında etanolü azaltıp eteri arttırmak (2 v/2 v ve 1 v/3 v) kolesterolun solvante geçmesinde bir değişiklik yapmıyor.

Tablo 2 de metanol metanol-kloroform karışımlarının Bloor çözücüsü ile kıyaslanması mevcuttur. Bu deney serisi serumdaki total kolesterolun Bloor çözücüsü ve metanolle tam ekstrakte edilmediğini ortaya koymuştur. Metanol-kloroform karışımı daha tam ekstraksiyon yapmaktadır.

Tablo 3 de ilk iki deney serisinde serumdaki kolesterolu en çok ekstrakte eden çözücülerin kıyaslanmasına ait neticeler gösterildi. % 96 etanol, metanol - kloroform karışımından daha tam bir ekstraksiyon yapmaktadır. % 96 etanol ise metanol-kloroform (1v/1v) karışımında takriben % 8 daha fazla kolesterolu ekstrakte etmiştir.

Tablo 4 de etanol ve etanol-kloroform karışımlara ait bulgularımız mevcuttur. Burada en fazla kolesterol ekstrakte eden çözücü % 96 etanoldur.

Total kolesterol tayininde ekstraksiyon çözücü olarak kullanılan Boor çözücüsü (% 96 etanol 3v/ dietileter 1v) tam ekstraksiyon yapamamaktadır. Bu lipid-protein kompleksinin parçalanmasının yeteri kadar olamaması veya total kolesterolun tam ekstrakte edilmemesine bağlıdır. Yukarıda verilen deney sonuçlarımıza göre Bloor çözücüsü % 96 etanol ve metanol-kloroform (1v/2v) karışımına göre daha az etkilidir.

NETİCE

Bloor çözücüsü oda ısısında serumdan total kolesterolu ekstrakte etmek için uygun bir çözücü karışımı değildir. Kullanıldığı takdirde total kolesterol neticeleri hakiki değerlerine kıyasla daha düşük bulunacaktır. Tetkik ettiğimiz çözücüler ve bunların karışımlarında en uygun olanı % 96 etanoldur. Bu alkol lipid-protein komplekslerini kopartmakta ve total kolesterolu ekstrakte etmektedir. Serum total kolesterolunun tayininde %96 etanol ile ekstraksiyon tercih edilmelidir.

ÖZET

Bu çalışmada serum total kolesterol tayininde serumdan kolesterolu ekstrakte etmede kullanılan bazı çözücülerini denedik.

Denediğimiz çözücüler için % 96 etanolun daha tam ekstraksiyon yapmakta olduğunu tesbit ettik, bu çözücü tetkik ettiğimiz Bloor çözücüsüne (% 96 etanol 3v/ dietileter 1v) tercih edilerek kullanılmalıdır.

SUMMARY

THE EFFECTS OF SOME SOLVENTS ON THE DETERMINATION OF SERUM TOTAL CHOLESTEROL

We investigated the effects of some solvents to extract the total cholesterol from human serum. It has been shown that the highest amount of cholesterol could be extracted by 96 % ethanol. This solvent should be preferred to the Bloor solvent mixture (3v ethanol/1v diethylether) to extract total cholesterol.

L I T E R A T Ü R

1. BAUER, D., ACKERMANN, G., TORO, G. : Clinical laboratory methods. S : 449-450, 8. ed., C. V. Mosby Co., Saint Louis, 1974.
2. WHITE, W. L., ERICKSON, M. M., STEVENS, S. C. : Chemistry for the clinical laboratory. S. : 193-194, 4 ed., C. V. Mosby Co., Saint Louis, 1976.
3. LYNCH, M., RAPHAEL, S., MELLOR, L., SPARE, P., HILLS, P., INWOOD. M. : Medical laboratory technology. S. : 146-148, W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1963.