

C4. Sterol Analizi

1. İlke

İnternal standart olarak kolesterol eklenen yağ, etanollü potasyum hidroksitle sabunlaştırılır, sabunlaşmayan madde dietil eterle ekstrakte edilir. Steroller sabunlaşmayan maddeden ince tabaka kromatografiyle ayrılıp, trimetilsilil esterlerine dönüştürülüp, gaz kromatografide analiz edilir.

2. Kimyasallar

İnternal standart (kolesterol) — 2N etanollü KOH (130 g KOH 200 mL'lik destile suda çözülür, soğuduktan sonra etanolle 1L'ye tamamlanır) — Dietil eter — Etanol — Sodyum sülfat anhidrat — 0.2 N etanollü KOH (13g KOH 20 mL'lik destile suda çözülür, etanolle 1L'ye tamamlanır) — Hekzan — Aseton — Kloroform — 2,7-dichlorofluoresceinin %0.2'lik etanollü çözeltisi — Piridin — BSTFA (bistrimethylsilyl trifluor acetamide+%1trimethyl chlorosilane) — Referans çözelti; β -sitosterolün kloroformdaki % 5'lik çözeltisi

3. Gereçler

500 ml'lik cam balon — Geri soğutucu — Isıtıcı — Ayırma hunisi — Erlen (250 mL) — Turnusol kağıdı — Cam balon (250 mL) — Mikroşiringa — Spatül — UV lamba — Nüçe erleni — Filtre — Watson filtre kağıdı — 50 mL'lik rotary balonu — Filtre kağıdı — Vial — Vakum pompası — İnce tabaka plakaları (20×20 cm) (0.25 mm silika jelle kaplanmış plakalar, 0.2 N etanollü KOH çözeltisine daldırılıp 10 sn bekletilir, çeker ocakta 2 saat bekletildikten sonra, 100°C'lik etüvde 1 saat kurutulur)

4. İşlem

1. aşama: Sabunlaşmayan maddenin ayrılması

Vakum pompasına bağlı nüçe erlenine filtre takılır, yağ örneği (içindeki nemi uzaklaştırmak amacıyla) susuz sodyum sülfattan geçirilir.

↓
Filtre edilmiş yaklaşık 5 g örnek, 500 mL'lik balona alınır.

↓
50 mL etanollü KOH ilave edilir

↓
4.5-5 mg kolesterol ilave edilir

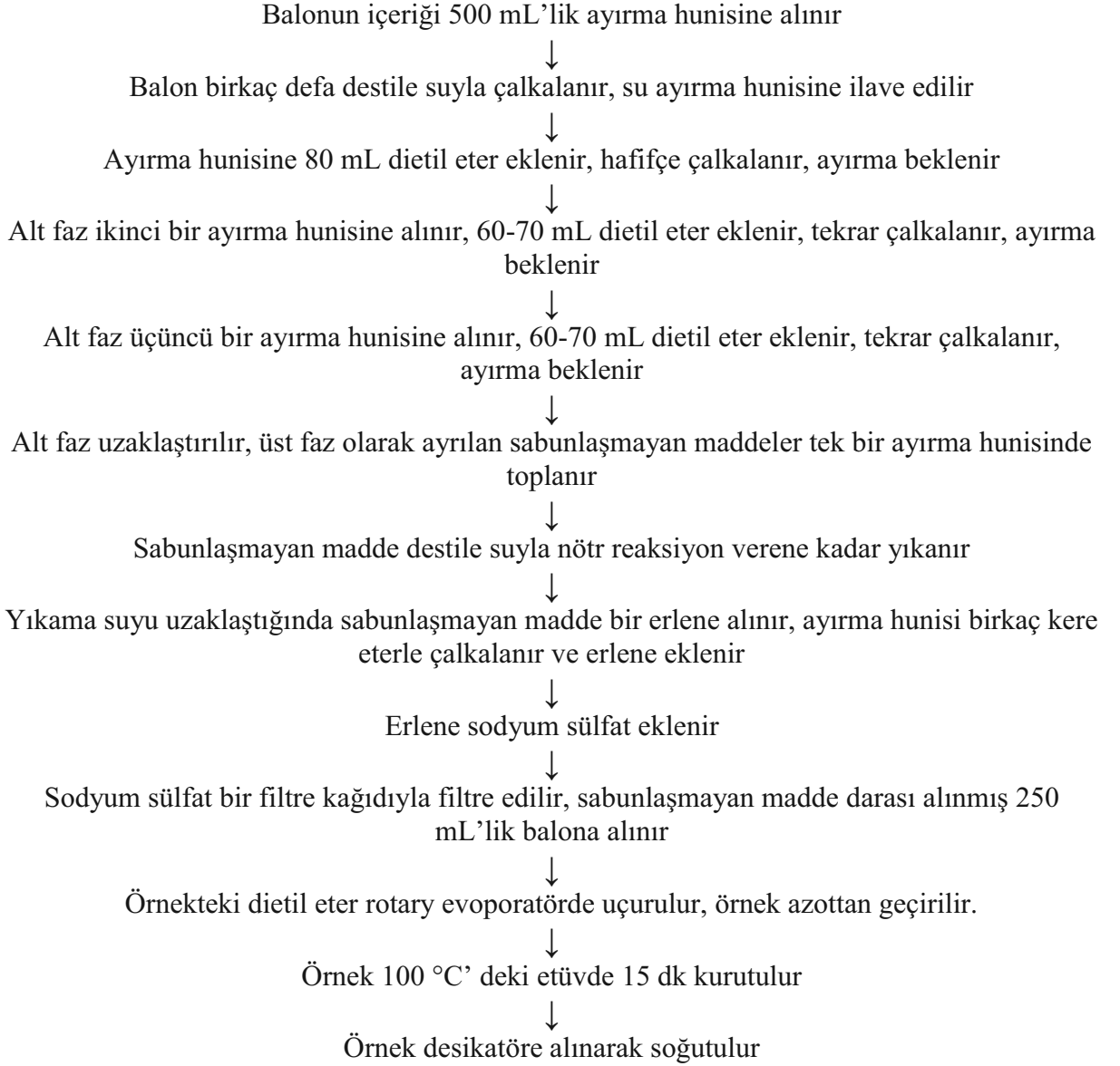
↓
Geri soğutucuya takılarak sabunlaşma gerçekleşinceye kadar (çözelti berraklaşır) beklenir

↓
Sabunlaşma 20 dk daha sürdürülür

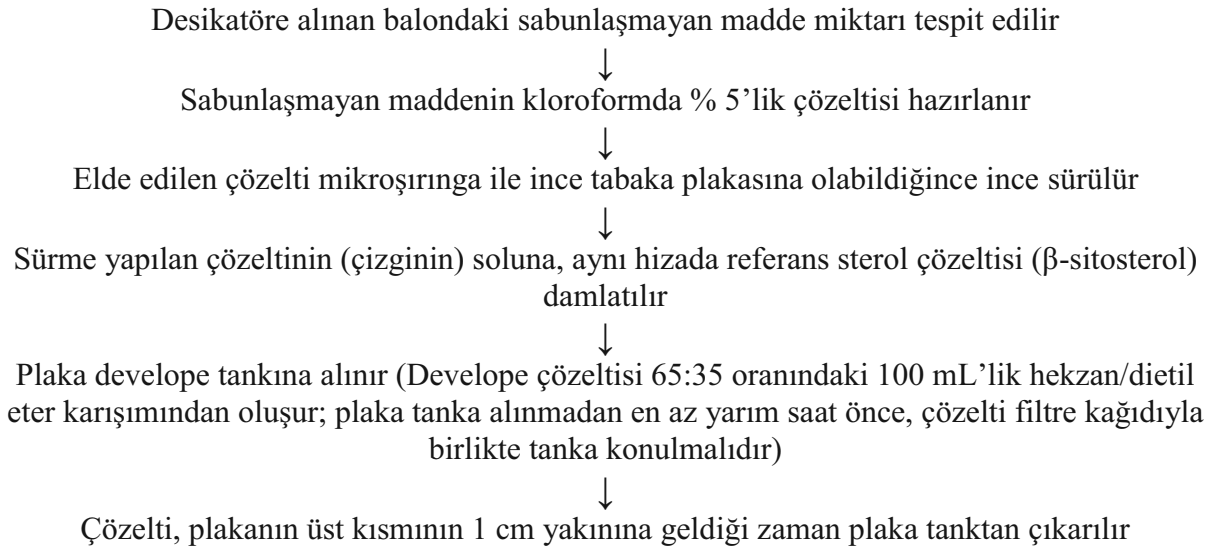
↓
Geri soğutucuya 50 mL su verilerek, balon soğutucudan çıkarılır.

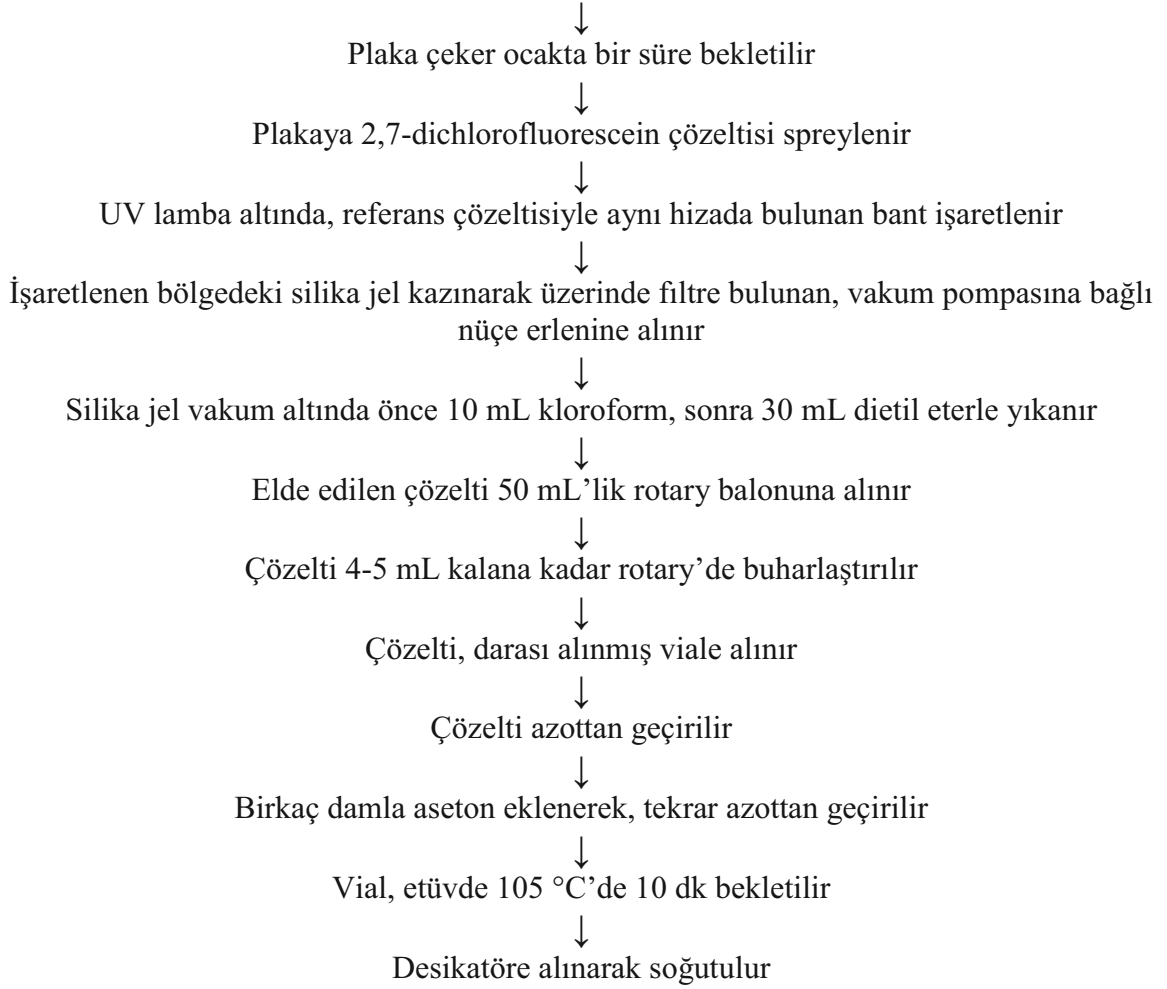
↓
Balon 30 °C'ye soğutulur.

↓

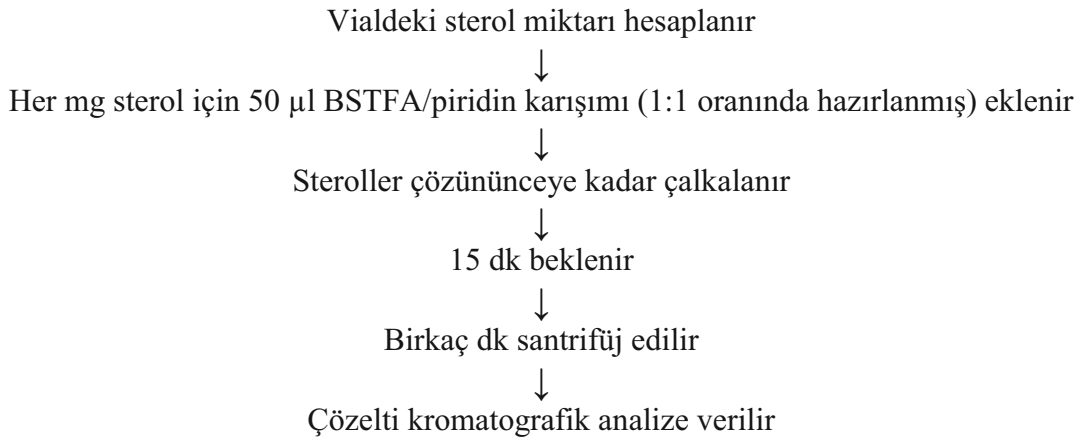


2.aşama: Sterol Fraksiyonunun Ayrılması





3.aşama: Trimetilsililleme



Kaynaklar

Anonymous. 2001. Determination of the composition and content of sterols by capillary column gas chromatography, international olive oil council, COI/T.201DOC.no.10.