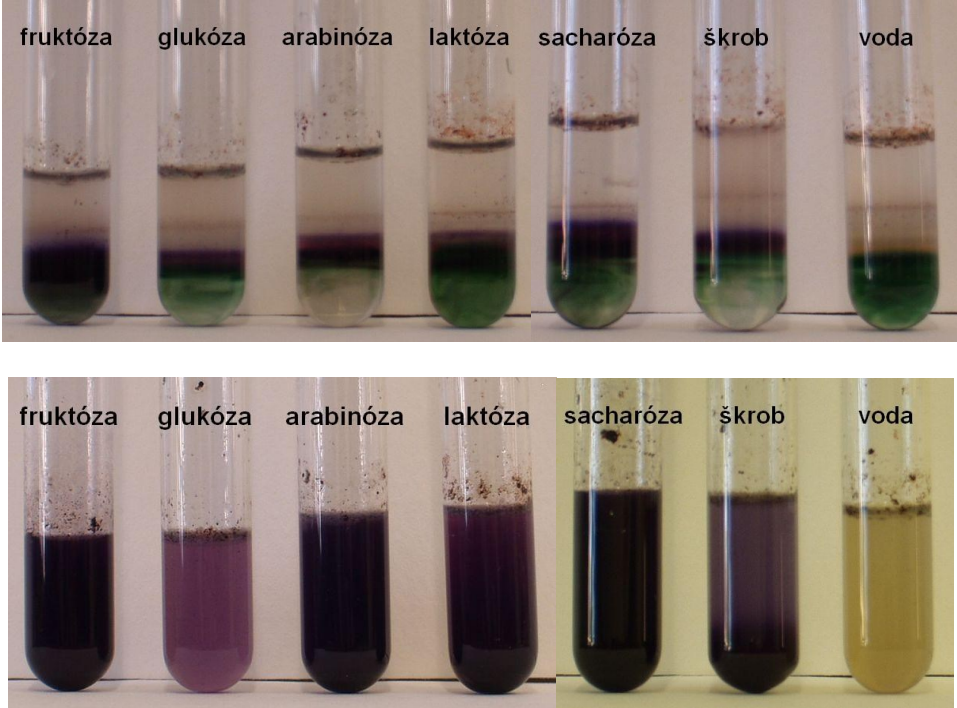
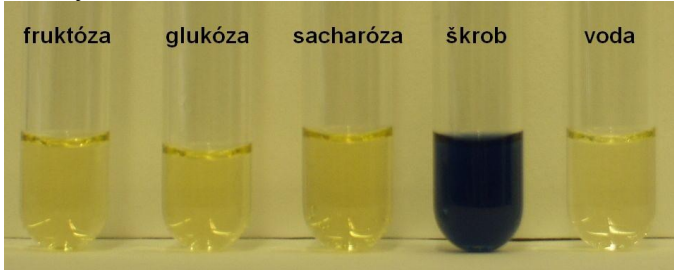
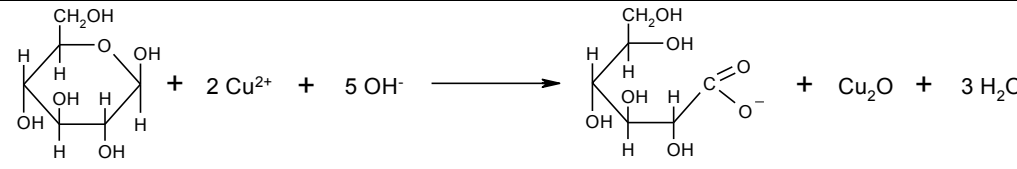

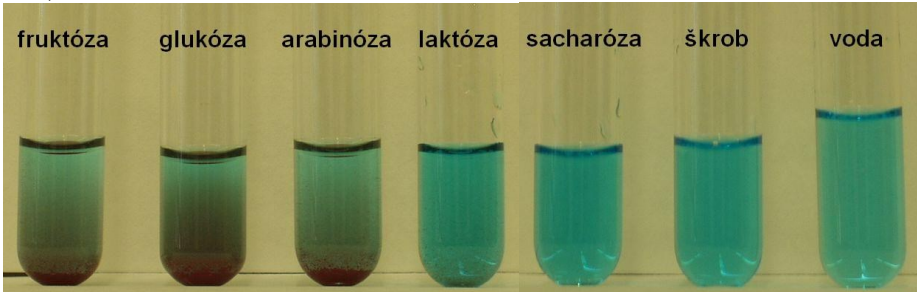
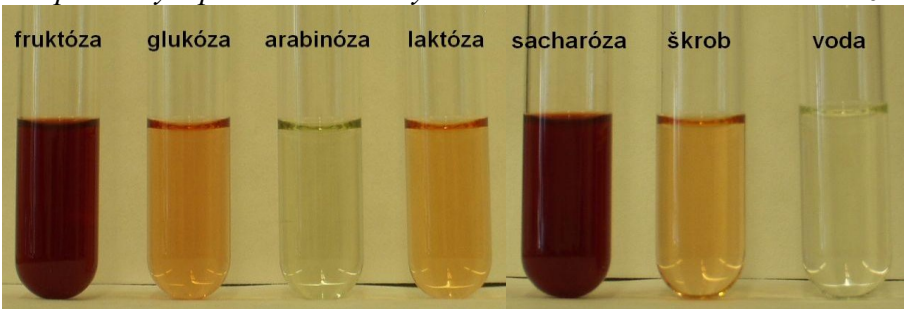
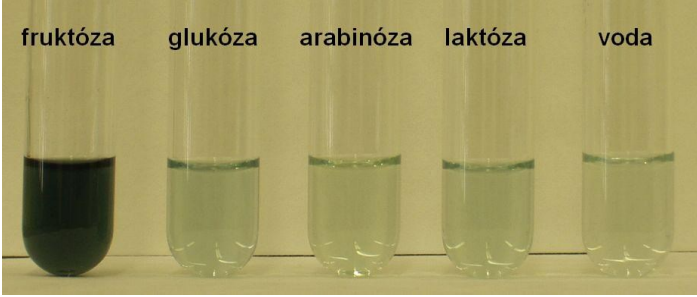
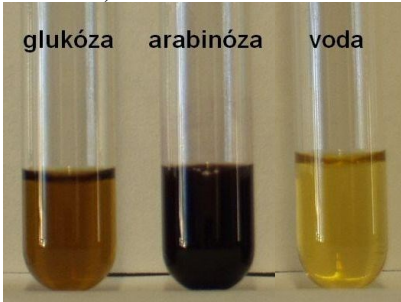


TÉMA	SACHARIDY
Úloha 17:	Reakcie na dôkaz sacharidov
	1. Molischova reakcia
<p>Princíp:</p> <p>Sacharidy dávajú s koncentrovanou kyselinou sírovou a α-naftolom intenzívne fialové sfarbenie, ktoré je spôsobené vznikom trifenylmetánového farbiva (obrázok 3.4, horná časť pred zamiešaním, dolná časť po zamiešaní).</p>	 <p>Obrázok 3.4 Molischova reakcia (nešpecifická reakcia na sacharidy)</p>
	2. Jódový test
<p>Princíp:</p> <p>Roztok jódu (jód rozpustený vo vodnom roztoku jodidu draselného) sa často využíva na dôkaz škrobu. Amylóza (nerozvetvená časť škrobu) vytvára helixy (závitnice), v ktorých sa zhromažďuje jód, čím vzniká charakteristické tmavomodré sfarbenie (obrázok 3.5). Amylopektín (rozvetvená časť škrobu) tvorí oveľa kratšie helixy, v ktorých sa jód nemôže zhromaždiť v dostatočnej miere, výsledkom čoho je oranžová farba roztoku. Roztok jódu reaguje aj s glykogénom za vzniku hnedého sfarbenia.</p>	 <p>Obrázok 3.5 Jódový test</p>
	3. Benediktiho reakcia
<p>Princíp:</p> <p>Benediktiho reakciou sa dokazujú redukujúce sacharidy (napr. glukóza, fruktóza, maltóza, laktóza). Benediktiho činidlo obsahuje síran meďnatý, ktorý sa redukuje na oxid meďný:</p>	

	<div style="text-align: center;">  </div> <p style="text-align: center;">β-D-glukopyranóza D-glukonát</p> <p><i>Oxid meďný je vo vode nerozpustný, preto ho možno pozorovať vo forme červenej, príp. oranžovej zrazeniny (obrázok 3.6). Zelenomodré sfarbenie je možné pozorovať v prípade škrobu, ktorého makromolekuly obsahujú jeden redukujúci koniec.</i></p> <div style="text-align: center;">  </div> <p style="text-align: center;">Obrázok 3.6 <i>Benediktiho reakcia</i></p>
4. Barfoedova reakcia	
<p>Princíp:</p>	<p><i>Octan meďnatý sa v prostredí kyseliny octovej v prítomnosti redukujúcich sacharidov redukuje na oxid meďný (obrázok 3.7). Prednostne reagujú mono-sacharidy, redukujúce disachradidy až po dlhšom zahrievaní. Citlivosť reakcie sa dá zvýšiť, ak sa vzniknutým oxidom meďným redukuje kyselina arzénomolybdénová (súčasť Nelsonovho činidla) na molybdénovú modrú (nie je ukázané).</i></p> <div style="text-align: center;">  </div> <p style="text-align: center;">Obrázok 3.7 <i>Barfoedova reakcia</i></p>
5. Seliwanovova reakcia	
<p>Princíp:</p>	<p><i>Seliwanovova reakcia je založená na vzniku višňovočerveného sfarbenia, ktoré dáva 5-hydroxymetylfurfural s rezorcínom v prítomnosti kyseliny chlorovodíkovej. Reakciu je možné použiť na odlišenie ketóz od aldóz. Farebné produkty v prítomnosti rôznych sacharidov sú uvedené na obrázku 3.8.</i></p> <div style="text-align: center;">  </div> <p style="text-align: center;">Obrázok 3.8 <i>Seliwanovova reakcia</i></p>

	6. Rothenfusserova reakcia
Princíp:	<p>Difénylamín dáva pri reakcii s ketózami v prostredí minerálnej kyseliny intenzívne modré sfarbenie.</p> <p>Pozitívna reakcia na fruktózu je znázornená na obrázku 3.9.</p>
	
	Obrázok 3.9 Rothenfusserova reakcia
	7. Reakcia s floroglucínom
Princíp:	<p>Pentózy v kyslom prostredí varom odštiepujú vodu, pričom sa tvorí furfural. Dokazujeme ho roztokom floroglucínu, pričom vzniká purpurovočervené až bordové sfarbenie (obrázok 3.10).</p>
	
	Obrázok 3.10 Reakcia s floroglucínom
Reagencie:	<ol style="list-style-type: none"> 1 % roztoky sacharidov (fruktóza, glukóza, arabinóza, laktóza, sacharóza, škrob) Molischovo činidlo (10 % roztok α-naftolu v 96 % etanole) koncentrovaná kyselina sírová 0,3 % roztok jódu v 5 % jodide draselnom Benediktovo činidlo (100 g Na_2CO_3 a 173 g citrátu sodného rozpustíme v 700 ml destilovanej vody. Po ochladení pridáme 13,7 g CuSO_4 rozpusteného v 100 ml vody a doplníme destilovanou vodou do 1 dm³.) Barfoedovo činidlo (13,3 g neutr. kryšt. octanu meďnatého rozpustíme v 200 ml vody, prefiltrujeme a pridáme 1,8 ml ľadovej kyseliny octovej.) Seliwanovovo činidlo (0,05 % roztok rezorcínu v koncentrovanej kyseline chlorovodíkovej zriedený destilovanou vodou v pomere 1:1.) Rothenfusserovo činidlo (20 ml 10 % difénylamínu v 96 % etanole, 80 ml ľadovej kyseliny octovej, 100 ml konc. kyseliny chlorovodíkovej) 0,2 % roztok floroglucínu v konc. kyseline chlorovodíkovej
Materiál:	sada hrubostenných skúmaviek, stojan na skúmavky, mikropipety, vodný kúpeľ (hrniec s vodou), varič, laboratórna trepačka
Postup:	<p>Každá zo siedmich očíslovaných skúmaviek v stojane obsahuje zásobný roztok jednej z nasledujúcich látok: arabinózu (aldopentóza), fruktózu (keto-hexóza), glukózu (aldohexóza), laktózu (redukujúci disacharid), sacharózu (neredukujúci disacharid), škrob (polysacharid) a destilovaný vodu.</p> <p>Do siedmich prázdnych skúmaviek (nezabudneme si ich očíslovať) napipetujeme po 2 ml z uvedených zásobných roztokov. Do každej z nich pridáme 1 –</p>

	<p>3 kvapky Molischovho činidla a 2 ml koncentrovanej kyseliny sírovej (po stenách skúmavky). Na rozhraní dvoch vrstiev (vrchná etanolová, spodná kyselinová) sa v prípade prítomnosti sacharidov vytvorí tmavofialový prstenec. Premiešaním nadobudnú roztoky sacharidov fialové sfarbenie. Roztok vody sa sfarbí na žltohnedo. Molischova reakcia je negatívna pre vodu, ktorú možno týmto spôsobom odlišiť od ostatných roztokov.</p> <p>Do ďalších šiestich skúmaviek napipetujeme po 2 ml zo zásobných roztokov sacharidov. Do každej z nich pridáme 2 – 4 kvapky roztoku jódu. Obsah skúmavky obsahujúcej škrob sa sfarbí na tmavomodro.</p> <p>Do nasledujúcich piatich skúmaviek napipetujeme po 2 ml Benediktiho činidla a pridáme po 1 ml zo zásobných roztokov sacharidov, ktoré zatiaľ neboli priradené. Roztoky v skúmavkách premiešame a ponoríme na 2 – 5 min do horúceho vodného kúpeľa. Po vybratí a vychladnutí skúmaviek zaznamenáme farebné zmeny roztokov. Pozitívnu Benediktiho reakciu dávajú redukujúce sacharidy.</p> <p>Do štyroch skúmaviek napipetujeme po 2 ml z roztokov nepriradených redukujúcich sacharidov, pridáme po 1 ml Barfoedovho činidla a ponoríme na 5 – 10 min do vriaceho vodného kúpeľa. Po vybratí a ochladení skúmaviek pozorujeme v prípade monosacharidov vznik tmavočervenej zrazeniny. Redukujúci disacharid (v našom prípade laktóza) reaguje až po dlhšom zahrievaní (10 – 20 min). Barfoedovou reakciou odlíšime redukujúci disacharid laktózu od monosacharidov.</p> <p>Na odlišenie ketohexózy (fruktóza) od aldohexózy (glukóza) a aldopentózy (arabinóza) použijeme Seliwanovovu reakciu. Do troch skúmaviek napipetujeme po 1 ml zo zásobných roztokov zostávajúcich troch neurčených monosacharidov, pridáme po 2 ml Seliwanovovho činidla a ponoríme na 1 – 3 min do vriaceho vodného kúpeľa. V skúmavke s fruktózou pozorujeme vznik višňovočerveného sfarbenia. Roztok s glukózou sa sfarbí na oranžovo.</p> <p>Na jednoznačný dôkaz fruktózy využijeme Rothenfusserovu reakciu. Do troch skúmaviek napipetujeme po 1 ml z tých istých zásobných roztokov ako v prípade predošlej reakcie. Pridáme po 1 ml Rothenfusserovho činidla a ponoríme na 3 – 5 min do horúceho vodného kúpeľa. Roztok s fruktózou má tmavomodré sfarbenie.</p> <p>Na rozlíšenie arabinózy od glukózy použijeme reakciu s floroglucínom. Do dvoch skúmaviek odpipetujeme po 2 ml floroglucínu, pridáme po 6 – 10 kvapiek z posledných dvoch neurčených zásobných roztokov a skúmavky vložíme do horúceho vodného kúpeľa na 1 – 2 min. Roztok s arabinózou sa sfarbí na bordovo.</p>
Pozorovanie:	Zaznamenáme zafarbenia roztokov v závislosti od použitej reakcie.
Záver:	Ku každej očíslovanej skúmavke s príslušným roztokom priradíme sacharid.